

Komórki KHOS-NP | 300235

Informacje ogólne

Description

KHOS-NP to linia komórkowa pochodząca z linii komórkowej HOS poprzez transformację wirusem mięsakovym myszy Kirsten (Ki-MSV). Proces transformacji doprowadził do powstania wysoce nowotworowej linii komórkowej, która charakteryzuje się kilkoma wyróżniającymi się właściwościami, dzięki czemu jest cenna w określonych zastosowaniach badawczych. Warto zauważyć, że komórki KHOS-NP są szczególnie przydatne do produkcji pseudotypów MSV z różnymi ekotropowymi i ksenotropowymi mysimi wirusami biiałaczki, co jest interesujące w badaniach skupiających się na replikacji wirusów, onkogenezie i powiązanych szlakach.

Komórki KHOS-NP wykazują właściwości wzrostu adhezyjnego i pochodzą z tkanki kostnej dorosłej białej kobiety. Komórki te posiadają genom Ki-MSV, ale nie wytwarzają zakaźnych cząstek wirusa ani antygenów wirusowych, dzięki czemu są bezpieczne w niektórych warunkach badań in vitro, gdzie produkcja zakaźnych wirusów mogłaby stanowić problem. Mimo to komórki KHOS-NP zachowują wysoką gęstość nasycenia i mają wysoką wydajność posiewu w miękkiej agarze, wykazując silne właściwości proliferacyjne i wzrost niezależny od zakotwiczenia, które są typowe dla transformowanych i nowotworowych linii komórkowych.

In vivo komórki KHOS-NP są wysoce nowotworowe, a częstotliwość powstawania nowotworów wynosi 100% u myszy nagich w ciągu 21 dni po zaszczepieniu, gdy wstrzyknięto im podskórnice 10^7 komórek. Te właściwości sprawiają, że linia komórkowa KHOS-NP jest cennym modelem do badania rozwoju mięsaka, biologii nowotworów i molekularnych mechanizmów leżących u podstaw onkogenezy. Należy jednak pamiętać, że komórki KHOS-NP nie nadają się do zastosowań terapeutycznych ani in vivo, a ich użycie powinno być ograniczone do kontrolowanych warunków eksperymentalnych w środowisku badawczym.

Organism Człowiek

Tissue Kość

Disease Mięsak kościopochodny

Synonyms KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS

Charakterystyka

Age 13 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do fibroblastów

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Komórki KHOS-NP | 300235

Dane regulacyjne

Citation	KHOS-NP (numer katalogowy Cytion 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u nagich myszy.
--------------------	----------------------

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4
Seeding density	2×10^4 komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Komórki KHOS-NP | 300235**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Komórki KHOS-NP | 300235

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 10,13
D5S818: 13
D7S820: 11,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 15
D21S11: 31.2,32.2
D18S51: 17
Penta E: 7,12
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,14
FGA: 24
PEZ6: HROG13