Product sheet

Komórki KHOS-NP | 300235

Informacje ogólne

Description	KHOS-NP to linia komórkowa pochodząca z linii komórkowej HOS poprzez transformację wirusem mięsakowym 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 białaczki, 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 podskórnie 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 NaHCO3, 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. Odrzucić 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 przylgnąć 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 przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x 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% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak

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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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