

Células KHOS-NP | 300235**Informações gerais****Description**

KHOS-NP é uma linha celular derivada da linha celular HOS através da transformação com o vírus do sarcoma murino de Kirsten (Ki-MSV). O processo de transformação resultou numa linha celular altamente tumorigênica, caracterizada por várias propriedades distintas, tornando-a valiosa para aplicações específicas de investigação. Notavelmente, as células KHOS-NP são particularmente úteis para a produção de pseudotipos MSV com vários vírus ecotrópicos e xenotrópicos da leucemia murina, o que é de interesse em estudos focados na replicação viral, oncogénese e vias relacionadas.

As células KHOS-NP exibem propriedades de crescimento aderente e são derivadas do tecido ósseo de uma mulher adulta branca. As células carregam o genoma Ki-MSV, mas não produzem partículas virais infecciosas ou antígenos virais, tornando-as seguras para certos ambientes de pesquisa in vitro onde a produção viral infecciosa seria uma preocupação. Apesar disso, as células KHOS-NP mantêm uma alta densidade de saturação e têm uma alta eficiência de plaqueamento em ágar mole, demonstrando características robustas de crescimento proliferativo e independente de ancoragem, que são típicas de linhas celulares transformadas e tumorigênicas.

In vivo, as células KHOS-NP são altamente tumorigênicas, com uma frequência de 100% de formação de tumores observada em ratos nude dentro de 21 dias após a inoculação, quando injetadas por via subcutânea com 10^7 células. Estas propriedades tornam a linha celular KHOS-NP um modelo valioso para o estudo do desenvolvimento do sarcoma, da biologia tumoral e dos mecanismos moleculares subjacentes à oncogénese. No entanto, é essencial observar que as células KHOS-NP não são adequadas para aplicações terapêuticas ou in vivo, e seu uso deve ser restrito a condições experimentais controladas em um ambiente de pesquisa.

Organism Humano**Tissue** Osso**Disease** Osteossarcoma**Synonyms** KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS**Caraterísticas****Age** 13 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** Tipo fibroblastos**Growth properties** Monocamada, aderente

Células KHOS-NP | 300235**Dados regulamentares****Citation** KHOS-NP (número de catálogo Cytion 300235)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2546**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus.**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 2×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Células KHOS-NP | 300235

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células KHOS-NP | 300235

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.