Product sheet

Celule KHOS-NP | 300235

Informații generale

Description	KHOS-NP este o linie celulară derivată din linia celulară HOS prin transformare cu virusul sarcomului murin Kirsten (Ki-MSV). Procesul de transformare a dus la obținerea unei linii celulare puternic tumorigene, caracterizată prin mai multe proprietăți distincte, ceea ce o face valoroasă pentru aplicații specifice de cercetare. În mod deosebit, celulele KHOS-NP sunt deosebit de utile pentru producerea de pseudotipuri MSV cu diverse virusuri ecotrope și xenotrope ale leucemiei murine, ceea ce prezintă interes în studiile axate pe replicarea virală, oncogeneză și căile asociate. Celulele KHOS-NP prezintă proprietăți de creștere aderentă și sunt derivate din țesutul osos al unei femei adulte de rasă albă. Celulele poartă genomul Ki-MSV, dar nu produc particule virale infecțioase sau antigene virale, ceea ce le face sigure pentru anumite medii de cercetare in vitro în care producția virală infecțioasă ar fi o preocupare. În ciuda acestui fapt, celulele KHOS-NP mențin o densitate de saturație ridicată și au o eficiență ridicată de placare în agar moale, demonstrând caracteristici robuste de creștere proliferativă și independentă de ancorare, care sunt tipice liniilor celulare transformate și tumorigenice. In vivo, celulele KHOS-NP sunt foarte tumorigene, cu o frecvență de 100% a formării tumorilor observată la șoareci nude în termen de 21 de zile după inoculare, atunci când sunt injectate subcutanat cu 10^7 celule. Aceste proprietăți fac din linia celulară KHOS-NP un model valoros pentru studierea dezvoltării sarcomului, a biologiei tumorale și a mecanismelor moleculare care stau la baza oncogenezei. Cu toate acestea, este esențial să se rețină că celulele KHOS-NP nu sunt adecvate pentru aplicații terapeutice sau in vivo, iar utilizarea lor trebuie limitată la condiții experimentale controlate într-un cadru de cercetare.
Organism	Om
Tissue	Os
Disease	Osteosarcom
Synonyms	KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS

Caracteristici

Age	13 ani
Gender	Femei
Ethnicity	Caucazian
Morphology	Fibroblast-like
Growth properties	Monostrat, aderent

Celule KHOS-NP | 300235

Date de reglementare

Citation	KHOS-NP (număr de catalog Cytion 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Date biomoleculare

Tumorigenic	Da, la șoareci nud.

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Seeding density	2 x 10^4 celule/cm^2
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Post-Thaw Recovery	După decongelare, plasați celulele la 5 x 10^4 celule/cm^2 și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule KHOS-NP | 300235

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.