

KHOS-NP celice | 300235

Splošne informacije

Description

KHOS-NP je celična linija, pridobljena iz celične linije HOS s transformacijo z virusom Kirsten murine sarcoma virus (Ki-MSV). Proces transformacije je privedel do visoko tumorogene celične linije, ki jo zaznamujejo številne posebne lastnosti, zaradi česar je dragocena za specifične raziskovalne aplikacije. Zlasti so celice KHOS-NP koristne za proizvodnjo psevdotipov MSV z različnimi ekotropnimi in ksenotropnimi mišjimi levkemijskimi virusi, kar je zanimivo za študije, osredotočene na virusno replikacijo, onkogenezo in sorodne poti.

Celice KHOS-NP kažejo adhezivne lastnosti rasti in izhajajo iz kostnega tkiva bele odrasle ženske. Celice nosijo genom Ki-MSV, vendar ne proizvajajo infekcijskih virusnih delcev ali virusnih antigenov, zaradi česar so varne za določene raziskovalne namene in vitro, kjer bi bila proizvodnja infekcijskih virusov problematična. Kljub temu celice KHOS-NP ohranjajo visoko nasičenost in imajo visoko učinkovitost pri nanosu na mehki agar, kar kaže na močne proliferativne in od sidranja neodvisne lastnosti rasti, ki so značilne za transformirane in tumorogene celične linije.

In vivo so celice KHOS-NP zelo tumorogene, saj je bila pri golih miših v 21 dneh po inokulaciji opazila 100-odstotna pogostost nastanka tumorjev, ko so jim podkožno injicirali 10^7 celic. Te lastnosti celice KHOS-NP delajo dragocen model za proučevanje razvoja sarkoma, biologije tumorjev in molekularnih mehanizmov, ki so osnova onkogeneze. Vendar je pomembno opozoriti, da celice KHOS-NP niso primerne za terapevtske ali in vivo aplikacije, njihova uporaba pa mora biti omejena na kontrolirane eksperimentalne pogoje v raziskovalnem okolju.

Organism Človek

Tissue Kosti

Disease Osteosarkom

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

Značilnosti

Age 13 let

Gender Ženske

Ethnicity Kavkaški

Morphology Fibroblastom podobni

Growth properties Enoslojni, adherentni

KHOS-NP celice | 300235

Regulativni podatki

Citation	KHOS-NP (Cytionova kataloška številka 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Biomolekularni podatki

Tumorigenic	Da, na golih miših.
--------------------	---------------------

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	2×10^4 celic/cm ²
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel ^{ic} /cm ² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

KHOS-NP celice | 300235

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

KHOS-NP celice | 300235

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.