Product sheet

Cellules KHOS-NP | 300235

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire KHOS-NP est dérivée de la lignée cellulaire HOS par transformation avec le virus du sarcome murin de Kirsten (Ki-MSV). Ce processus de transformation a donné naissance à une lignée cellulaire hautement tumorigène qui se caractérise par plusieurs propriétés distinctes, ce qui la rend précieuse pour des applications de recherche spécifiques. Il convient notamment de noter que les cellules KHOS-NP sont particulièrement utiles pour produire des pseudotypes de MSV avec divers virus de la leucémie murine écotropes et xénotropes, ce qui présente un intérêt pour les études axées sur la réplication virale, l'oncogenèse et les voies de signalisation associées. Les cellules KHOS-NP présentent des propriétés de croissance adhérente et proviennent du tissu osseux d'une femme adulte de race blanche. Ces cellules sont porteuses du génome du Ki-MSV, mais ne produisent ni particules virales infectieuses ni antigènes viraux, ce qui les rend sûres pour certains contextes de recherche in vitro où la production de virus infectieux constituerait un risque. Malgré cela, les cellules KHOS-NP conservent une densité de saturation élevée et présentent une grande efficacité de repiquage dans l'agar mou, démontrant ainsi de solides caractéristiques de prolifération et de croissance indépendante de l'ancrage, typiques des lignées cellulaires transformées et tumorigènes. In vivo, les cellules KHOS-NP sont hautement tumorigènes, avec une fréquence de formation de tumeurs de 100 % observée chez des souris nues dans les 21 jours suivant l'inoculation, lorsqu'elles reçoivent une injection sous-cutanée de 10^7 cellules. Ces propriétés font de la lignée cellulaire KHOS-NP un modèle précieux pour l'étude du développement des sarcomes, de la biologie tumorale et des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'oncogenèse. Il est toutefois essentiel de noter que les cellules KHOS-NP ne conviennent pas à des applications thérapeutiques ou in vivo, et que leur utilisation doit être limitée à des conditions expérimentales contrôlées dans un contexte de recherche.
Organism	Humain
Tissue	Os
Disease	Ostéosarcome
Synonyms	KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS

Caractéristiques

Age	13 ans
Gender	Femme
Ethnicity	caucasien
Morphology	De type fibroblaste

Cellules KHOS-NP | 300235

Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Oui, chez les souris nues.

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	2×10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm^2 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Cellules KHOS-NP | 300235

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.