Product sheet

Células KHOS-NP | 300235

Informações gerais

Description	A KHOS-NP é uma linhagem celular derivada da linhagem HOS por meio da transformação com o vírus do sarcoma murino de Kirsten (Ki-MSV). O processo de transformação resultou em uma linhagem celular altamente tumorigênica, caracterizada por diversas propriedades distintas, o que a torna valiosa para aplicações específicas de pesquisa. Notavelmente, as células KHOS-NP são particularmente úteis para a produção de pseudótipos de MSV com vários vírus da leucemia murina ecotrópicos e xenotrópicos, o que é de interesse em estudos focados na replicação viral, oncogênese e vias relacionadas. As células KHOS-NP apresentam propriedades de crescimento aderente e são derivadas do tecido ósseo de uma mulher adulta de pele branca. As células portam o genoma do Ki-MSV, mas não produzem partículas virais infecciosas nem antígenos virais, o que as torna seguras para determinados ambientes de pesquisa in vitro em que a produção de vírus infecciosos seria uma preocupação. Apesar disso, as células KHOS-NP mantêm uma alta densidade de saturação e apresentam alta eficiência de plaqueamento em ágar mole, demonstrando características robustas de crescimento proliferativo e independente de ancoragem, típicas de linhagens celulares transformadas e tumorigênicas. In vivo, as células KHOS-NP são altamente tumorigênicas, com uma frequência de 100% de formação de tumor observada em camundongos nude dentro de 21 dias após a inoculação, quando injetadas por via subcutânea com 10^7 células. Essas propriedades tornam a linhagem celular KHOS-NP um modelo valioso para o estudo do desenvolvimento do sarcoma, da biologia tumoral e dos mecanismos moleculares subjacentes à oncogênese. 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

Características

Age	13 anos
Gender	Mulher
Ethnicity	caucasiano
Morphology	Semelhante a fibroblastos
Growth properties	Monocamada, aderente

Células KHOS-NP | 300235

Dados regulatórios

Citation	KHOS-NP (número de catálogo da Cytion 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Sim, em camundongos nude.

Manuseio

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	2×10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Células KHOS-NP | 300235

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.
Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.