

MNNG-HOS (CL #5) rakud | 300289

Üldine teave

Description

MNNG/HOS CL #5 rakuliin [R-1059-D] on saadud inimese osteosarkoomi rakuliinist HOS in vitro transformatsiooni teel N-metüül-N'-nitro-N-nitrosoguanidiiniga (MNNG) kontsentratsiooniga 0,01 mcg/ml. See ühend on tugev kantserogeen ja transformatsiooniga kaasnesid märkimisväärsed tuumorigeensed omadused, mida tõendas tuumorite tekkimine alasti hiirtel 21 päeva jooksul 100% sagedusega, kui neile süstiti naha alla 10^7 rakku. Need tuumorid olid halvasti diferentseeritud sarkoomid või osteosarkoomid. Rakuliin loodi algselt 13-aastaselt valgenahalise naispatsiendilt, kellel oli osteosarkoom, ja see näitab adhesiivseid kasvamisomadusi.

Funktsionaalselt näitavad MNNG/HOS CL #5 rakud pehme agaris kõrget küllastustihedust ja kõrget plaadistamise efektiivsust, mis peegeldab nende tugevdatud kinnitumissõltumatut kasvu, mis on pahaloomulise transformatsiooni tunnuseks. Lisaks näitavad need rakud märkimisväärt fibrinolüütilist aktiivsust, mis on seotud suurenenud kasvajate tekitamise potentsiaaliga. Võrreldes ravimata HOS-rakkudega, näitavad MNNG-ga ravitud rakud tugevamaid rakkude agregatsiooniomadusi ja suuremat kalduvust moodustada kolooniaid pehmes agaris, mis korreleerub nende kasvajate moodustamise võimega. Eksperimentides tekitasid MNNG-ga transformeeritud rakud kasvajaid nii alasti hiirtel kui ka hamstritel, kusjuures rakud sarnanesid emarakuga HOS, samas kui ravimata rakud ei olnud sarnastes tingimustes kasvajate tekitajad.

See rakuliin on kasulik ka vähi progressiooni ja kasvajate bioloogia uurimisel, eriti osteosarkoomi puhul, kuna see pakub keemiliselt indutseeritud transformatsiooni mudelit. Nende rakkude võime kasvada immuunpuudulikus keskkonnas (nt alasti hiirtel) muudab need väärtuslikuks vahendiks prekliinilises vähiuuringutes, võimaldades uurida kasvajate tekitamise mehhanisme ja potentsiaalselt testida ravivõimalusi.

Organism

Inimene

Tissue

Bone

Disease

Osteosarkoom

Synonyms

MNNG/HOS, MNNG-HOS, HOS-MNNG, HOS/MNNG, MNNGHOS, MNNG/HOS (CL#5), MNNG/HOS kloon F-5, MNNG, R-1059-D, TE85, Te85, TE-85, HOS-TE85, Hos TE-85, HOS TE 85, HOS TE85, HOS (TE85), HOS(TE85), HOS (TE85, kloon F5), MNNG-HOS (TE 85, kloon F-5), TE-85 kloon F-5, HOS-Te85, TE 85.T, TE 85 kloon F-5, TE-85 kloon 5

Omadused

Age

13 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Fibroblastilaadsed

MNNG-HOS (CL #5) rakud | 300289

Growth properties

Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed**Citation**

MNNG-HOS (CL #5) (Cytioni katalooginumber 300289)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0439

Biomolekulaarsed andmed**Isoenzymes**

G6PD, B

Tumorigenic

Jah, alasti hiirtel

Töötlemine**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements**

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal**

2 kuni 3 korda nädalas

MNNG-HOS (CL #5) rakud | 300289**Post-Thaw Recovery**

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MNNG-HOS (CL #5) rakud | 300289**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

A*: '02:11:01
B*: '52:01:01
C*: '12:02:02
DRB1*: '15:02:01G, '16:02:01
DQA1*: '01:02:02, '01:03:01
DQB1*: '05:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:01:01