

MNNG-HOS (CL #5) Solut | 300289

Yleisiä tietoja

Description

MNNG/HOS CL #5 -solulinja [R-1059-D] on peräisin ihmisen osteosarkoomasolulinjasta HOS, joka on muunnettu in vitro N-metyyli-N'-nitro-N-nitrosoguanidiinilla (MNNG) pitoisuudella 0,01 mcg/ml. Tämä yhdiste on voimakas karsinogeeni, ja transformaatio johti merkittäviin tuumorigeenisiin ominaisuuksiin, mikä todettiin 10^7 solun subkutaanisen inokuloinnin jälkeen 21 päivän kuluessa alastomilla hiirillä 100 %:n esiintyvyydellä. Näiden tuumorien havaittiin olevan huonosti erilaistuneita sarkoomia tai osteosarkoomia. Solulinja perustettiin alun perin 13-vuotiaalta valkoiselta naispotilaalta, jolla oli osteosarkooma, ja se osoittaa adheesiivisiä kasvuominaisuuksia.

Toiminnallisesti MNNG/HOS CL #5 -solut osoittavat korkeaa saturaatiotiheyttä ja korkeaa levitystehokkuutta pehmeässä agarissa, mikä heijastaa niiden parannettua kiinnittymisestä riippumatonta kasvua, joka on pahanlaatuisen muutoksen tunnusmerkki. Lisäksi nämä solut osoittavat huomattavaa fibrinolyttistä aktiivisuutta, joka on yhdistetty lisääntyneeseen tuumorigeeniseen potentiaaliin. Verrattuna käsittelemättömiin HOS-soluihin MNNG-käsitellyt solut osoittavat vahvempia solujen aggregaatiominaisuuksia ja suurempaa taipumusta muodostaa pesäkkeitä pehmeässä agarissa, mikä korreloi niiden tuumorimuodostuskyvyn kanssa. Kokeissa MNNG-transformoidut solut tuottivat tuumoreita sekä alastomissa hiirissä että hamstereissa, ja solut muistuttivat emosolulinjaa HOS, kun taas käsittelemättömät solut eivät olleet tuumorigeenisiiä samanlaisissa olosuhteissa.

Tämä solulinja on hyödyllinen myös syövän etenemisen ja kasvaimen biologian, erityisesti osteosarkooman, tutkimuksessa, koska se tarjoaa mallin kemiallisesti indusoidusta transformaatiosta. Näiden solujen kyky kasvaa immuunipuutteisessa ympäristössä (esim. alastomissa hiirissä) tekee niistä arvokkaan työkalun prekliinisessä syöpätutkimuksessa, sillä ne mahdollistavat kasvaimia aiheuttavien mekanismien tutkimisen ja terapeuttien interventioiden potentiaalisen testaamisen.

Organism

Ihminen

Tissue

Luu

Disease

Osteosarkooma

Synonyms

MNNG/HOS, MNNG-HOS, HOS-MNNG, HOS/MNNG, MNNGHOS, MNNG/HOS (CL#5), MNNG/HOS-klooni 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, klooni F5), MNNG-HOS (TE 85, klooni F-5), TE-85 klooni F-5, HOS-Te85, TE 85.T, TE 85 ClF-5, TE-85 klooni 5, TE-85 klooni 5

Ominaisuudet

Age

13 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

MNNG-HOS (CL #5) Solut | 300289

Morphology Fibroblastien kaltaiset**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation MNNG-HOS (CL #5) (Cytionin luettelonumero 300289)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0439

Biomolekyylitiedot

Isoenzymes G6PD, B**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 1×10^4 solua/cm²

MNNG-HOS (CL #5) Solut | 300289

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

MNNG-HOS (CL #5) Solut | 300289**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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