

## MNNG-HOS (CL #5) Sejtek | 300289

## Általános információk

## Description

Az MNNG/HOS Cl #5 sejtvonal [R-1059-D] az emberi osteosarcoma sejtvonalból, a HOS-ból származik, amelyet in vitro transzformáltak N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidinnel (MNNG) 0,01 mcg/ml koncentrációban. Ez a vegyület erős rákkeltő anyag, és a transzformáció jelentős tumorigenikus tulajdonságokat eredményezett, amit bizonyít az, hogy  $10^7$  sejt szubkultán beoltása után 21 napon belül 100%-os gyakorisággal tumorok alakultak ki meztelen egerekben. Ezek a tumorok rosszul differenciált szarkómák vagy osteosarkómák voltak. A sejtvonalat eredetileg egy 13 éves, osteosarcomában szenvedő fehér bőrű női páciensből hozták létre, és adhezív növekedési tulajdonságokat mutat.

Funkcionálisan az MNNG/HOS Cl #5 sejtek magas telítettségi sűrűséget és magas lemezhatékonyt mutatnak lágy agarban, ami tükrözi fokozott, rögzítésfüggetlen növekedésüket, amely a rosszindulatú transzformáció jellemzője. Ezenkívül ezek a sejtek jelentős fibrinolitikus aktivitást mutatnak, amely összefüggésbe hozható a megnövekedett tumorigenikus potenciállal. A kezeletlen HOS sejtekhez képest az MNNG-vel kezelt sejtek erőteljesebb sejtaggregációs tulajdonságokat és nagyobb hajlamot mutatnak a puha agaron történő kolóniaképzésre, ami összefüggésbe hozható tumorképző képességükkel. Kísérletek során az MNNG-vel transzformált sejtek mind meztelen egerekben, mind hörcsögökben tumorokat képeztek, amelyek a szülő HOS vonalhoz hasonló sejtek voltak, míg a kezeletlen sejtek hasonló körülmények között nem voltak tumorigenikusak.

Ez a sejtvonal a rák progressziójának és a tumorbiológia, különösen az osteosarcoma tanulmányozásában is hasznos, mivel kémiai indukált transzformáció modelljét biztosítja. Ezeknek a sejteknek az immunhiányos környezetben (pl. meztelen egerekben) való növekedési képessége értékes eszközzé teszi őket a preklinikai rákkutatásban, lehetővé téve a tumorigenikus mechanizmusok vizsgálatát és a terápiás beavatkozások potenciális tesztelését.

**Organism** Emberi

**Tissue** Csont

**Disease** Osteosarcoma

**Synonyms** MNNG/HOS, MNNG-HOS, HOS-MNNG, HOS/MNNG, MNNGHOS, MNNG/HOS (Cl#5), MNNG/HOS F-5 klón, MNNG, R-1059-D, TE85, Te85, TE-85, HOS-TE85, HOS TE-85, HOS TE 85, HOS TE85, HOS (TE85), HOS (TE85), HOS (TE85, F5 klón), MNNG-HOS (TE 85, F-5 klón), TE-85 F-5 klón, HOS-Te85, TE 85.T, TE 85 ClF-5, TE-85 klón 5

## Jellemzők

**Age** 13 év

**Gender** Női

**Ethnicity** Kaukázusi

**MNNG-HOS (CL #5) Sejtek | 300289****Morphology** Fibroblaszt-szerű**Growth properties** Monoréteg, tapadó**Szabályozási adatok****Citation** MNNG-HOS (CL #5) (Cytion katalógusszám: 300289)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0439**Biomolekuláris adatok****Isoenzymes** G6PD, B**Tumorigenic** Igen, meztelen egerekben**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup>

**MNNG-HOS (CL #5) Sejtek | 300289****Fluid renewal**      hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery**      Felolvasztás után helyezze a sejteket  $5 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.**Freeze medium**      Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**       $37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.**Flask Coating**      Nincs

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

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

**Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA****Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

**HLA allélok**

**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