

**MNNG-HOS (CL #5) ląstelės | 300289****Bendra informacija****Description**

MNNG/HOS Cl #5 ląstelių linija [R-1059-D] yra gauta iš žmogaus osteosarkomos ląstelių linijos HOS, transformuojant in vitro N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidinu (MNNG) 0,01 mcg/ml koncentracija. Šis junginys yra stiprus kancerogenas, o transformacija sukėlė reikšmingas tumorigenines savybes, kurias patvirtina navikų susidarymas nuogosiuose pelėse per 21 dieną 100 % dažniu, kai buvo įskiepytos  $10^7$  ląstelės. Buvo pastebėta, kad šie navikai yra silpnai diferencijuoti sarkomai arba osteosarkomai. Ląstelių linija buvo sukurta iš 13 metų amžiaus baltos odos moters, sergančios osteosarkoma, ir pasižymi adhezinėmis augimo savybėmis.

Funkciniu požiūriu MNNG/HOS Cl #5 ląstelės pasižymi dideliu prisotinimo tankiu ir dideliu plokštelės efektyvumu minkštoje agarų terpėje, o tai atspindi jų sustiprintą nuo tvirtinimo nepriklausomą augimą, kuris yra piktybinės transformacijos požymis. Be to, šios ląstelės pasižymi pastebima fibrinolitinė aktyvumu, kuris siejamas su padidėjusiu navikų formavimo potencialu. Palyginti su neapdorotomis HOS ląstelėmis, MNNG apdorotos ląstelės pasižymi stipresnėmis ląstelių agregacijos savybėmis ir didesniu polinkiu formuoti kolonijas minkštoje agarų terpėje, o tai koreliuoja su jų navikų formavimo gebėjimais. Eksperimentuose MNNG transformuotos ląstelės sukėlė navikus tiek nuogosioms pelėms, tiek žiurkėnams, o ląstelės buvo panašios į pirminę HOS liniją, tuo tarpu neapdorotos ląstelės panašiomis sąlygomis navikų nesukėlė.

Ši ląstelių linija taip pat yra naudinga tirti vėžio progresavimą ir navikų biologiją, ypač osteosarkomą, nes ji suteikia chemiškai indukuotos transformacijos modelį. Šių ląstelių gebėjimas augti imuninės sistemos sutrikimų turinčioje aplinkoje (pvz., nuogosiuose pelėse) daro jas vertinga priemone ikiklinikiniams vėžio tyrimams, leidžiančia tirti navikų formavimo mechanizmus ir potencialiai išbandyti terapines intervencijas.

**Organism** Žmogus**Tissue** Kaulas**Disease** Osteosarkoma**Synonyms** MNNG/HOS, MNNG-HOS, HOS-MNNG, HOS/MNNG, MNNGHOS, MNNG/HOS (Cl#5), MNNG/HOS Clone 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), HOS (TE85, klonas F5), MNNG-HOS (TE 85, klonas F-5), TE-85 klonas F-5, HOS-Te85, TE 85.T, TE 85 ClF-5, TE-85 klonas 5**Charakteristikos****Age** 13 metų**Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** | fibroblastus panašus

**MNNG-HOS (CL #5) ląstelės | 300289**

**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

**Reguliavimo duomenys**

**Citation** MNNG-HOS (CL #5) (Cytion katalogo numeris 300289)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0439

**Biomolekuliniai duomenys**

**Isoenzymes** G6PD, B

**Tumorigenic** Taip, su nuogomis pelėmis

**Tvarkymas**

**Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

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

Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolium.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykites nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

## MNNG-HOS (CL #5) ląstelės | 300289

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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