

MNNG-HOS (CL #5) šūnas | 300289

Vispārīga informācija

Description

MNNG/HOS Cl #5 šūnu līnija [R-1059-D] ir iegūta no cilvēka osteosarkomas šūnu līnijas HOS, izmantojot in vitro transformāciju ar N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidīnu (MNNG) koncentrācijā 0,01 mcg/ml. Šis savienojums ir spēcīgs kancerogēns, un transformācija izraisīja nozīmīgas tumorogēnas īpašības, ko pierāda audzēju veidošanās kailām pelēm 21 dienu laikā ar 100 % biežumu, kad tām subkutāni inokulēja 10^7 šūnas. Šie audzēji bija slikti diferencēti sarkomi vai osteosarkomi. Šūnu līnija sākotnēji tika izveidota no 13 gadus vecas baltas sievietes pacienta ar osteosarkomu un uzrāda adhezīvas augšanas īpašības.

Funkcionāli MNNG/HOS Cl #5 šūnas uzrāda augstu piesātinājuma blīvumu un augstu plāksņu efektivitāti mīkstā agārā, atspoguļojot to uzlaboto noenkurošanās neatkarīgo augšanu, kas ir ļaundabīgas transformācijas pazīme. Turklāt šīs šūnas uzrāda ievērojamu fibrinolītisko aktivitāti, kas saistīta ar palielinātu tumorogēno potenciālu. Salīdzinot ar neapstrādātām HOS šūnām, MNNG apstrādātās šūnas izrāda spēcīgākas šūnu agregācijas īpašības un lielāku tendence veidot kolonijas mīkstā agārā, kas korelē ar to audzēju veidošanas spējām. Eksperimentos MNNG transformētās šūnas radīja audzējus gan kailām pelēm, gan kāmjiem, šūnas atgādinot vecāku HOS līniju, savukārt neapstrādātās šūnas līdzīgos apstākļos nebija tumorogēnas.

Šī šūnu līnija ir noderīga arī vēža progresijas un audzēju bioloģijas pētījumos, jo īpaši osteosarkomas gadījumā, jo tā nodrošina ķīmiski inducētas transformācijas modeli. Šo šūnu spēja augt imūndeficītas vides apstākļos (piemēram, kailām pelēm) padara tās par vērtīgu instrumentu pirmsklīniskajos vēža pētījumos, ļaujot izpētīt tumorogēniskos mehānismus un potenciāli testēt terapeitiskas intervences.

Organism

Cilvēks

Tissue

Bone

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, klons F5), MNNG-HOS (TE 85, klons F-5), TE-85 klons F-5, HOS-Te85, TE 85.T, TE 85 ClF-5, TE-85 klons 5

Raksturojums

Age

13 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Fibroblastiem līdzīgs

MNNG-HOS (CL #5) šūnas | 300289

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation MNNG-HOS (CL #5) (Cytion kataloga numurs 300289)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0439

Biomolekulārie dati

Isoenzymes G6PD, B

Tumorigenic Jā, kailām pelēm

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

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

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

MNNG-HOS (CL #5) šūnas | 300289

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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