

Komórki MNNG-HOS (CL #5) | 300289**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa MNNG/HOS Cl #5 [R-1059-D] pochodzi z ludzkiej linii komórkowej osteosarcoma HOS poprzez transformację in vitro za pomocą N-metylo-N'-nitro-N-nitrozoguanidyny (MNNG) w stężeniu 0,01 mcg/ml. Związek ten jest silnym czynnikiem rakotwórczym, a transformacja spowodowała znaczne właściwości nowotworowe, czego dowodem jest powstawanie nowotworów u myszy nagich w ciągu 21 dni z częstotliwością 100% po podskórnym zaszczepieniu 10^7 komórek. Nowotwory te były słabo zróżnicowanymi mięsakami lub osteosarcomami. Linia komórkowa została pierwotnie ustanowiona na podstawie 13-letniej białej pacjentki z osteosarcomą i wykazuje właściwości wzrostu adhezyjnego.

Pod względem funkcjonalnym komórki MNNG/HOS Cl #5 wykazują wysoką gęstość nasycenia i wysoką wydajność posiewu w miękkim agarze, co odzwierciedla ich zwiększony wzrost niezależny od zakotwiczenia, charakterystyczny dla transformacji nowotworowej. Ponadto komórki te wykazują znaczną aktywność fibrynolityczną, która jest związana ze zwiększonym potencjałem nowotworowym. W porównaniu z komórkami HOS niepoddanymi działaniu MNNG, komórki poddane działaniu MNNG wykazują silniejsze właściwości agregacji komórkowej i większą skłonność do tworzenia kolonii w miękkiej agarze, co koreluje z ich zdolnością do tworzenia nowotworów. W eksperymentach komórki transformowane MNNG wytworzyły nowotwory zarówno u myszy nagich, jak i chomików, przy czym komórki przypominały linię macierzystą HOS, podczas gdy komórki niepoddane działaniu MNNG nie wykazywały właściwości nowotworowych w podobnych warunkach.

Linia komórkowa ta jest również przydatna w badaniach nad progresją nowotworów i biologią nowotworów, w szczególności osteosarcoma, ponieważ stanowi model transformacji wywołanej chemicznie. Zdolność tych komórek do wzrostu w środowisku z obniżoną odpornością (np. u myszy nagich) sprawia, że są one cennym narzędziem w przedklinicznych badaniach nad rakiem, umożliwiającym badanie mechanizmów nowotworowych i potencjalne testowanie interwencji terapeutycznych.

Organism

Człowiek

Tissue

Kość

Disease

Mięsak kościopochodny

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

Charakterystyka**Age**

13 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Komórki MNNG-HOS (CL #5) | 300289**Morphology** Podobny do fibroblastów**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation** MNNG-HOS (CL #5) (numer katalogowy Cytion 300289)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0439**Dane biomolekularne****Isoenzymes** G6PD, B**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:4**Seeding density** 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Komórki MNNG-HOS (CL #5) | 300289**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieścić komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

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

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 10,13
D5S818: 13
D7S820: 11,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 15
D21S11: 31.2
D18S51: 14
Penta E: 7,12
Penta D: 9,10
D8S1179: 14
FGA: 24

Komórki MNNG-HOS (CL #5) | 300289

Allele HLA

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