

**Células MNNG-HOS (CL #5) | 300289****Informações gerais****Description**

A linha celular MNNG/HOS Cl #5 [R-1059-D] é derivada da linha celular de osteossarcoma humano HOS através da transformação in vitro com N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) a uma concentração de 0,01 mcg/ml. Este composto é um potente carcinogéneo, e a transformação resultou em propriedades tumorigênicas significativas, evidenciadas pela formação de tumores em ratos nude dentro de 21 dias com uma frequência de 100% quando inoculados subcutaneamente com  $10^7$  células. Observou-se que estes tumores eram sarcomas ou osteossarcomas pouco diferenciados. A linha celular foi originalmente estabelecida a partir de uma paciente branca de 13 anos com osteossarcoma e exibe propriedades de crescimento aderente.

Funcionalmente, as células MNNG/HOS Cl #5 demonstram alta densidade de saturação e alta eficiência de plaqueamento em ágar mole, refletindo seu crescimento independente de ancoragem aprimorado, uma característica da transformação maligna. Além disso, essas células exibem notável atividade fibrinolítica, que tem sido associada ao aumento do potencial tumorigênico. Quando comparadas com células HOS não tratadas, as células tratadas com MNNG exibem propriedades de agregação celular mais robustas e uma maior propensão para formar colônias em ágar mole, o que se correlaciona com as suas capacidades de formação de tumores. Em experiências, as células transformadas com MNNG produziram tumores tanto em ratos nude como em hamsters, com células semelhantes à linha HOS parental, enquanto as células não tratadas não eram tumorigênicas em condições semelhantes.

Esta linha celular também é útil no estudo da progressão do cancro e da biologia tumoral, particularmente do osteossarcoma, pois fornece um modelo de transformação induzida quimicamente. A capacidade destas células de crescerem num ambiente imunocomprometido (por exemplo, ratos nude) torna-as uma ferramenta valiosa para a investigação pré-clínica do cancro, permitindo a investigação de mecanismos tumorigênicos e o teste potencial de intervenções terapêuticas.

**Organism** Humano**Tissue** Osso**Disease** Osteossarcoma**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, Clone F5), MNNG-HOS (TE 85, clone F-5), TE-85 clone F-5, HOS-Te85, TE 85.T, TE 85 ClF-5, TE-85 clone 5**Caraterísticas****Age** 13 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano

**Células MNNG-HOS (CL #5) | 300289****Morphology** Tipo fibroblastos**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** MNNG-HOS (CL #5) (número de catálogo Cytion 300289)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0439**Dados biomoleculares****Isoenzymes** G6PD, B**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

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

Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera humidificada.

**Flask Coating**

Nenhum

## Células MNNG-HOS (CL #5) | 300289

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

### Alelos 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