

MNNG-HOS (CL #5) Celice | 300289**Splošne informacije****Description**

Celična linija MNNG/HOS Cl #5 [R-1059-D] izhaja iz človeške osteosarkomske celične linije HOS prek in vitro transformacije z N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidinom (MNNG) v koncentraciji 0,01 mcg/ml. Ta spojina je močan karcinogen, transformacija pa je povzročila pomembne tumorogene lastnosti, kar dokazuje nastanek tumorjev pri golih miših v 21 dneh s 100-odstotno frekvenco, ko so bile subkutano inokulirane s 10^7 celicami. Opazili so, da so bili ti tumorji slabo diferencirani sarkomi ali osteosarkomi. Celična linija je bila prvotno vzpostavljena iz 13-letne bele pacientke z osteosarkomom in kaže adhezivne lastnosti rasti.

Funkcionalno celice MNNG/HOS Cl #5 kažejo visoko nasičenost in visoko učinkovitost pri nanosu na mehki agar, kar odraža njihovo povečano rast, neodvisno od pritrditve, kar je značilnost malignega preoblikovanja. Poleg tega te celice kažejo opazno fibrinolitično aktivnost, ki je povezana s povečanim tumorigenim potencialom. V primerjavi z neobdelanimi celicami HOS celice, obdelane z MNNG, kažejo močnejše lastnosti agregacije celic in večjo nagnjenost k tvorjenju kolonij v mehkem agarju, kar je povezano z njihovo sposobnostjo tvorjenja tumorjev. V poskusih so celice, transformirane z MNNG, povzročile tumorje tako pri golih miših kot pri hrčkih, pri čemer so celice spominjale na matično linijo HOS, medtem ko neobdelane celice v podobnih pogojih niso bile tumorogene.

Ta celična linija je uporabna tudi pri proučevanju napredovanja raka in biologije tumorjev, zlasti osteosarkoma, saj zagotavlja model kemično inducirane transformacije. Sposobnost teh celic, da rastejo v imunsko oslavljenem okolju (npr. golih miših), jih naredi dragoceno orodje za predklinične raziskave raka, saj omogočajo preučevanje tumorigenih mehanizmov in potencialno testiranje terapevtskih posegov.

Organism Človek**Tissue** Kost**Disease** Osteosarkom**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**Značilnosti****Age** 13 let**Gender** Ženske**Ethnicity** Kavkaški**Morphology** Fibroblastom podobni

MNNG-HOS (CL #5) Celice | 300289

Growth properties Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation MNNG-HOS (CL #5) (kataloška številka Cytion 300289)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0439

Biomolekularni podatki

Isoenzymes G6PD, B

Tumorigenic Da, na golih miših

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

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

Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

MNNG-HOS (CL #5) Celice | 300289

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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