Product sheet

Клетки MHH-ES1 | 300136

Обща информация

Description	Клетъчната линия MHH-ES1 е получена от пациент със сарком на Юинг - силно агресивен рак на костите и меките тъкани, засягащ предимно деца и млади хора. Тази клетъчна линия е ценен модел за изучаване на молекулярните механизми, лежащи в основата на саркома на Юинг, по-специално ролята на сливането на гена EWSR1-FLI1, което е характерно за този вид рак. Сливането на гена е резултат от транслокация между хромозоми 11 и 22, което води до производството на онкогенен транскрипционен фактор, който стимулира туморогенезата. MHH-ES1, подобно на други клетъчни линии на сарком на Юинг, се използва за изследване на пътищата, повлияни от EWSR1-FLI1, включително промените в клетъчната пролиферация, диференциация и апоптоза. Изследователите използват клетъчната линия MHH-ES1, за да оценят ефикасността на различни терапевтични средства, насочени към пътища, които са от решаващо значение за оцеляването и пролиферацията на саркома на Юинг. Например, тя е от съществено значение за тестването на инхибитори с малки молекули, РНК интерференция и техники за редактиране на гени CRISPR-Cas9, насочени към прекъсване на фюжън гена EWSR1-FLI1 или неговите ефектори надолу по веригата. Освен това MHH-ES1 служи като модел за изучаване на механизмите на резистентност към конвенционалната химиотерапия и за идентифициране на нови биомаркери за ранна диагностика и проследяване на отговора на лечението при пациенти със сарком на Юинг.
Organism	Човек
Tissue	Bone
Disease	Сарком на Юинг
Metastatic site	Асцит
Synonyms	MHH-ES-1, MHHES1

Характеристики

Age	12 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Турски
Morphology	Малки кръгли клетки
Growth properties	Прилепнали, клъстери

Клетки MHH-ES1 | 300136

Регулаторни данни

Citation	MHH-ES1 (каталожен номер 300136 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 до 2 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	На всеки 3 до 5 дни
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MHH-ES1 | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MHH-ES1 | 300136

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '01:01:01, '68:01:01 **B***: '40:01:02, '49:01:01 **C***: '01:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '07:01:01, '11:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:05:01 **DQB1***: '03:01:01, '03:03:02G **DPB1***: '10:01:01, '13:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:01