

## Клетки МНН-ES1 | 300136

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия МНН-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. Сливването на гена е резултат от транслокация между хромозоми 11 и 22, което води до производството на онкогенен транскрипционен фактор, който стимулира туморогенезата. МНН-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 МНН-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 МНН-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

МНН-ES-1, МННЕС1

## Характеристики

## Age

12 години

## Gender

Мъжки

## Ethnicity

Турски

## Morphology

Малки кръгли клетки

## Growth properties

Прилепнали, клъстери

## Клетки MHN-ES1 | 300136

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	MHN-ES1 (каталожен номер 300136 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1411

## Биомолекулярни данни

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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 ресуспендирайте, 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.
<b>Seeding density</b>	1 до $2 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	На всеки 3 до 5 дни
<b>Post-Thaw Recovery</b>	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност $5 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup> и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
<b>Freeze medium</b>	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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

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

**Клетки МНН-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