

## Buňky MHH-ES1 | 300136

## Obecné informace

## Description

Buněčná linie MHH-ES1 pochází od pacienta s Ewingovým sarkomem, vysoce agresivním nádorem kostí a měkkých tkání, který postihuje převážně děti a mladé dospělé. Tato buněčná linie je cenným modelem pro studium molekulárních mechanismů, které jsou základem Ewingova sarkomu, zejména role fúzního genu EWSR1-FLI1, který je pro tento typ rakoviny charakteristický. Fúzní gen je výsledkem translokace mezi chromozomy 11 a 22, což vede k produkci onkogenního transkripčního faktoru, který je hnací silou tumorigeneze. MHH-ES1, stejně jako ostatní buněčné linie Ewingova sarkomu, se využívá ke zkoumání drah ovlivňovaných EWSR1-FLI1, včetně změn v buněčné proliferaci, diferenciaci a apoptóze.

Vědci používají buněčnou linii MHH-ES1 k hodnocení účinnosti různých terapeutických látek zaměřených na dráhu kritické pro přežití a proliferaci Ewingova sarkomu. Například slouží k testování inhibitorů malých molekul, RNA interference a technik editace genů CRISPR-Cas9, jejichž cílem je narušit fúzní gen EWSR1-FLI1 nebo jeho následné efekty. Kromě toho slouží MHH-ES1 jako model pro studium mechanismů rezistence vůči konvenční chemoterapii a pro identifikaci nových biomarkerů pro včasnou diagnostiku a sledování léčebné odpovědi u pacientů s Ewingovým sarkomem.

## Organism

Člověk

## Tissue

Kost

## Disease

Ewingův sarkom

## Metastatic site

Ascites

## Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

## Charakteristika

## Age

12 let

## Gender

Muži

## Ethnicity

Turecký

## Morphology

Malé kulaté buňky

## Growth properties

Adherentní, shluky

## Regulační údaje

**Buňky MHH-ES1 | 300136**

<b>Citation</b>	MHH-ES1 (katalogové číslo Cytion 300136)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1411
<b>Depositor</b>	Hartmann

**Biomolekulární data****Zpracování**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	Doporučuje se poměr 1:3
<b>Seeding density</b>	1 až 2 x 10 <sup>4</sup> buněk/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Každých 3 až 5 dní
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10 <sup>4</sup> buněk/cm <sup>2</sup> a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
<b>Freeze medium</b>	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Buňky MHH-ES1 | 300136

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Buňky MHH-ES1 | 300136****Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

**Profil STR**

**CSF1PO:** 11  
**D13S317:** 8  
**D16S539:** 11  
**D5S818:** 13  
**D7S820:** 9,11  
**TH01:** 8,9  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 16,17  
**D3S1358:** 15,16  
**D21S11:** 28,32.2  
**D18S51:** 14,16  
**Penta E:** 11,15  
**Penta D:** 11,12  
**D8S1179:** 11,13  
**FGA:** 22

**Alely HLA**

**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