

MHH-ES1-celler | 300136

Generel information

Description

MHH-ES1-cellelinjen stammer fra en patient med Ewing-sarkom, en meget aggressiv knogle- og bløddelscancer, der primært rammer børn og unge voksne. Denne cellelinje er en værdifuld model til undersøgelse af de molekylære mekanismer, der ligger til grund for Ewing-sarkom, især den rolle, som fusionsgenet EWSR1-FLI1 spiller, hvilket er karakteristisk for denne kræfttype. Fusionsgenet er resultatet af en translokation mellem kromosom 11 og 22, hvilket fører til produktion af en onkogen transkriptionsfaktor, der driver tumorigenese. MHH-ES1 bruges ligesom andre Ewing-sarkom-cellelinjer til at undersøge de veje, der påvirkes af EWSR1-FLI1, herunder ændringer i celleproliferation, differentiering og apoptose.

Forskere bruger MHH-ES1-cellelinjen til at evaluere effekten af forskellige terapeutiske midler, der retter sig mod veje, der er kritiske for Ewing-sarkoms overlevelse og spredning. For eksempel er den medvirkende til at teste små molekylhæmmere, RNA-interferens og CRISPR-Cas9-genredigeringsteknikker, der har til formål at forstyrre EWSR1-FLI1-fusionsgenet eller dets downstream-effektorer. Derudover fungerer MHH-ES1 som en model til at studere resistensmekanismer over for konventionel kemoterapi og til at identificere nye biomarkører til tidlig diagnose og overvågning af behandlingsrespons hos Ewing-sarkompatienter.

Organism

Menneske

Tissue

Knogle

Disease

Ewings sarkom

Metastatic site

Ascites

Synonyms

MHH-ES-1, MHHES1

Karakteristika

Age

12 år

Gender

Mand

Ethnicity

Tyrkisk

Morphology

Små runde celler

Growth properties

Vedhæftende, klynger

Regulatoriske data

MHH-ES1-celler | 300136**Citation** MHH-ES1 (Cytion katalognummer 300136)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1411**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 1 til 2×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

MHH-ES1-celler | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

MHH-ES1-celler | 300136

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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