

Κύτταρα MHH-ES1 | 300136

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά MHH-ES1 προέρχεται από ασθενή με σάρκωμα Ewing, έναν εξαιρετικά επιθετικό καρκίνο των οστών και των μαλακών μορίων που προσβάλλει κυρίως παιδιά και νεαρούς ενήλικες. Αυτή η κυτταρική σειρά αποτελεί πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που διέπουν το σάρκωμα Ewing, ιδίως του ρόλου του γονιδίου σύντηξης EWSR1-FLI1, το οποίο είναι χαρακτηριστικό αυτού του τύπου καρκίνου. Το γονίδιο σύντηξης προκύπτει από μετατόπιση μεταξύ των χρωμοσωμάτων 11 και 22, οδηγώντας στην παραγωγή ενός ογκογόνου μεταγραφικού παράγοντα που κινεί την καρκινογένεση. Η MHH-ES1, όπως και άλλες κυτταρικές σειρές σαρκώματος Ewing, χρησιμοποιείται για τη διερεύνηση των μονοπατιών που επηρεάζονται από το EWSR1-FLI1, συμπεριλαμβανομένων των μεταβολών στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση.

Οι ερευνητές χρησιμοποιούν την κυτταρική σειρά MHH-ES1 για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφόρων θεραπευτικών παραγόντων που στοχεύουν σε μονοπάτια κρίσιμα για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του σαρκώματος Ewing. Για παράδειγμα, συμβάλλει καθοριστικά στη δοκιμή αναστολέων μικρών μορίων, παρεμβολής RNA και τεχνικών γονιδιακής επεξεργασίας CRISPR-Cas9 που αποσκοπούν στη διακοπή του γονιδίου σύντηξης EWSR1-FLI1 ή των μεταγενέστερων επιδραστικών παραγόντων του. Επιπλέον, το MHH-ES1 χρησιμεύει ως μοντέλο για τη μελέτη των μηχανισμών αντίστασης στη συμβατική χημειοθεραπεία και για τον εντοπισμό νέων βιοδεικτών για την έγκαιρη διάγνωση και την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία σε ασθενείς με σάρκωμα Ewing.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Οστά

Disease

Σάρκωμα Ewing

Metastatic site

Ασκήτης

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Χαρακτηριστικά

Age

12 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Τουρκικά

Morphology

Μικρά στρογγυλά κύτταρα

Growth properties

Προσκολλημένα, συστάδες

Κύτταρα MHH-ES1 | 300136

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	MHH-ES1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300136)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 έως 2×10^4 κύτ ^{ταρα} /cm ²
Fluid renewal	Κάθε 3 έως 5 ημέρες
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm ² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα MHH-ES1 | 300136**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα MHH-ES1 | 300136**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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