

## CADO-ES1 rakud | 300127

## Üldine teave

## Description

CADO-ES1 rakuliin loodi pahaloomulisest pleuraefusioonist, mis saadi 19-aastaselt naispatsiendilt, kellel diagnoositi Ewingi sarkoom, mis paiknes peamiselt paremas tuharas ja millel oli mitmeid kopsu metastaase. See rakuliin on väärtuslik vahend sarkoomi bioloogia uurimiseks, eelkõige Ewingi sarkoomiga seotud metastaatiliste protsesside uurimiseks. Ewingi sarkoomi kui peamiselt lapsi ja noori täiskasvanuid mõjutavat haigust iseloomustavad väikesed ümmargused rakud, mis on väga pahaloomulised, sageli agressiivse käitumisega ja halva prognoosiga, eriti kui need annavad metastaate.

CADO-ES1 rakkudel on mitmeid kriitilisi omadusi, mis on väärtuslikud vähktõve süvauuringute jaoks. Nad on heterotransplanteeritavad, mis tähendab, et neid saab siirdada teistesse liikidesse (nt hiirtesse), mis on oluline in vivo uuringute jaoks. See võime muudab nad usaldusväärseks mudeliks, mille abil saab uurida kasvaja kasvu ja metastaaside teket kontrollitud, kuid bioloogiliselt asjakohases süsteemis. Lisaks on need rakud näidanud, et nad suudavad kasvada ankurdamisest sõltumatult, mis on paljudele vähirakkudele iseloomulik omadus, mis võimaldab neil areneda ilma rakuvälise maatriksi külge kinnitumata. Lisaks sellele suudavad CADO-ES1 rakud diferentseeruda neuronaalselt vastuseks tsükliilise AMP-le (cAMP), mis annab ainulaadse vaatenurga rakkude käitumisele, mida mõjutavad signaaliteedid vähi progresseerumisel ja diferentseerumisel.

Selline omaduste kombinatsioon muudab CADO-ES1 oluliseks mudeliks mitte ainult Ewingi sarkoomi patoloogia mõistmiseks, vaid ka selliste sihtotstarbeliste ravimeetodite väljatöötamiseks ja katsetamiseks, mis võivad pärssida sarnaste vähivormide kasvu ja levikut. Seda rakuliini kasutavad uuringud võivad aidata kaasa vähirakkude käitumise, metastaatiliste mehhanismide ja sarkoomide võimalike ravieesmärkide sügavamale mõistmisele.

## Organism

Inimene

## Tissue

Bone

## Disease

Ewingi sarkoom

## Synonyms

CADO-ES-1, CADO ES1, CADOES1, CADO-ES, Cado-ES, ESCADO1, Täiskasvanute haiguste keskus Osaka-Ewing Sarcoma 1

## Omadused

## Age

19 aastat

## Gender

Naised

## Ethnicity

Jaapani

## Morphology

Väikesed ümmargused rakud

## CADO-ES1 rakud | 300127

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

**Citation** CADO-ES1 (Cytioni katalooginumber 300127)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1103

## Biomolekulaarsed andmed

**Receptors expressed** CD99 (Eun Jung Lee, 2003)

## Töötlemine

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Fluid renewal** Iga 3 kuni 4 päeva tagant

**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

## CADO-ES1 rakud | 300127

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernetant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## CADO-ES1 rakud | 300127

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**A\***: '11:01:01, '24:02:01

**B\***: '15:01:01, '40:01:02

**C\***: '04:01:01, '07:02:01

**DRB1\***: '03:01:01, '04:05:01

**DQA1\***: '03:03:01

**DQB1\***: '02:01:01, '04:01:01

**DPB1\***: '02:01:02, '05:01:01

**E**: '01:01:01, '01:03:01