

MHH-ES1 rakud | 300136

Üldine teave

Description

MHH-ES1 rakuliin on saadud Ewingi sarkoomi (väga agressiivne luu- ja pehmete kudede vähk, mis esineb peamiselt lastel ja noortel täiskasvanutel) patsiendilt. See rakuliin on väärtuslik mudel Ewingi sarkoomi aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, eelkõige sellele vähitüübile iseloomuliku EWSR1-FLI1 fusioongeeni rolli uurimiseks. Fusioongeen tuleneb kromosoomide 11 ja 22 vahelisest translokatsioonist, mis põhjustab onkogeense transkriptsioonifaktori tootmist, mis juhib kasvajate teket. MHH-ES1, nagu ka teisi Ewingi sarkoomi rakuliine, kasutatakse EWSR1-FLI1 poolt mõjutatud rakkude, sealhulgas rakkude proliferaatsiooni, diferentseerumise ja apoptoosi muutuste uurimiseks.

Teadlased kasutavad MHH-ES1 rakuliini, et hinnata erinevate Ewingi sarkoomi ellujäämise ja proliferaatsiooni seisukohalt kriitilisi radu mõjutavate ravimeetodite tõhusust. Näiteks aitab see testida väikemolekulide inhibiitoreid, RNA interferentsi ja CRISPR-Cas9 geenitöötlustehnikaid, mille eesmärk on häirida EWSR1-FLI1 fusioongeeni või selle allavoolu efekteid. Lisaks on MHH-ES1 mudeliks, mille abil saab uurida resistentsuse mehhanisme tavapärase keemiaravi suhtes ja tuvastada uusi biomarkereid Ewingi sarkoomi patsientide varajase diagnoosimise ja ravivastuse jälgimise jaoks.

Organism

Inimene

Tissue

Bone

Disease

Ewingi sarkoom

Metastatic site

Astsiit

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Omadused

Age

12 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Türgi

Morphology

Väikesed ümmargused rakud

Growth properties

Kinnine, klastrid

Regulatiivsed andmed

MHH-ES1 rakud | 300136**Citation** MHH-ES1 (Cytioni katalooginumber 300136)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1411**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel 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 tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 1 kuni 2×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** Iga 3 kuni 5 päeva tagant**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**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.

MHH-ES1 rakud | 300136**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

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

MHH-ES1 rakud | 300136

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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

HLA alleles

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