

## CADO-ES1-solut | 300127

## Yleisiä tietoja

## Description

CADO-ES1-solulinja perustettiin pahanlaatuisesta pleuraeritteestä, joka otettiin 19-vuotiaalta naispotilaalta, jolla todettiin Ewingin sarkooma, joka sijaitsi pääasiassa oikeassa pakarassa ja jolla oli useita keuhkometastaaseja. Tämä solulinja on arvokas väline sarkooman biologian tutkimukseen, erityisesti Ewingin sarkoomaan liittyvien metastaattisten prosessien tutkimiseen. Ewingin sarkoomalle, joka on pääasiassa lapsia ja nuoria aikuisia vaivaava sairaus, ovat ominaisia pienet pyöreät solut, jotka ovat erittäin pahanlaatuisia, usein aggressiivisia ja joiden ennuste on huono, erityisesti silloin kun ne saavat etäpesäkkeitä.

CADO-ES1-soluilla on ainutlaatuisella tavalla useita kriittisiä ominaisuuksia, jotka ovat arvokkaita syvällisen syöpätutkimuksen kannalta. Ne ovat heterotransplantaatiokykyisiä, mikä tarkoittaa, että ne voidaan siirtää eri lajeihin (esim. hiiriin), mikä on elintärkeää in vivo -tutkimuksissa. Tämä kyky tekee niistä vankan mallin kasvainten kasvun ja etäpesäkkeiden tutkimiseen kontrolloidussa, mutta biologisesti merkityksellisessä järjestelmässä. Lisäksi nämä solut ovat osoittaneet kykenevänsä kasvamaan ankkuroitumisesta riippumatta, mikä on monille syöpäsoluille tyypillinen ominaisuus, jonka ansiosta ne voivat menestyä ilman kiinnittymistä solunulkoiseen matriisiin. Lisäksi CADO-ES1-solut voivat erilaistua hermostollisesti syklisen AMP:n (cAMP) vaikutuksesta, mikä tarjoaa ainutlaatuisen näkökulman solujen käyttäytymiseen, johon signaalireitit vaikuttavat syövän etenemisessä ja erilaistumisessa.

Tämä ominaisuuksien yhdistelmä tekee CADO-ES1:stä merkittävän mallin paitsi Ewingin sarkooman patologian ymmärtämiseksi myös sellaisten kohdennettujen hoitojen kehittämiseksi ja testaamiseksi, jotka voisivat estää samankaltaisten syöpien kasvua ja leviämistä. Tätä solulinjaa hyödyntävä tutkimus voi auttaa ymmärtämään syvällisemmin syöpäsolujen käyttäytymistä, etäpesäkemekanismeja ja mahdollisia terapeuttisia kohteita sarkoomissa.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Luu

**Disease** Ewingin sarkooma

**Synonyms** CADO-ES-1, CADO ES1, CADOES1, CADO-ES, Cado-ES, ESCADO1, Osakan aikuisten sairauksien keskus - Ewing-sarkooma 1

## Ominaisuudet

**Age** 19 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Japanilainen

**Morphology** Pienet pyöreät solut

**CADO-ES1-solut | 300127**

**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

**Säätelytiedot**

**Citation** CADO-ES1 (Cytionin luettelonumero 300127)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1103

**Biomolekyyli tiedot**

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

**Käsittely**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

**Fluid renewal** 3-4 päivän välein

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

## CADO-ES1-solut | 300127

### Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

## CADO-ES1-solut | 300127

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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