

MHH-ES1-solut | 300136

Yleisiä tietoja

Description

MHH-ES1-solulinja on peräisin potilaalta, jolla on Ewingin sarkooma, erittäin aggressiivinen luu- ja pehmytkudossyöpä, joka vaikuttaa pääasiassa lapsiin ja nuoriin aikuisiin. Tämä solulinja on arvokas malli Ewingin sarkooman taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen, erityisesti tälle syöpätyypille tyypillisen EWSR1-FLI1-fuusiogeenin roolin tutkimiseen. Fuusiogeeni on seurausta kromosomien 11 ja 22 välisestä translokaatiosta, joka johtaa onkogeenisestä transkriptiotekijän tuotantoon, joka ohjaa kasvainten syntyä. MHH-ES1:tä, kuten muitakin Ewingin sarkooman solulinjoja, käytetään EWSR1-FLI1:n vaikutuksen alaisina olevien reittien, kuten solujen proliferaation, erilaistumisen ja apoptoosin muutosten, tutkimiseen.

Tutkijat käyttävät MHH-ES1-solulinjaa arvioidakseen erilaisten sellaisten terapeuttisten aineiden tehoa, jotka kohdistuvat Ewingin sarkooman eloonjäämisen ja lisääntymisen kannalta kriittisiin reitteihin. Sitä käytetään esimerkiksi testattaessa pieniä molekyyli-inhibiittoreita, RNA-interferenssiä ja CRISPR-Cas9-geenieditointitekniikoita, joilla pyritään häiritsemään EWSR1-FLI1-fuusiogeeniä tai sen myöhempiä vaikuttajia. Lisäksi MHH-ES1 toimii mallina, jonka avulla tutkitaan perinteisen kemoterapian resistenssimekanismia ja tunnistetaan uusia biomarkkereita varhaisdiagnosia ja hoitovasteen seuranta varten Ewingin sarkoomapotilailla.

Organism Ihminen

Tissue Luu

Disease Ewingin sarkooma

Metastatic site Askites

Synonyms MHH-ES-1, MHHE1

Ominaisuudet

Age 12 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Turkkilainen

Morphology Pienet pyöreät solut

Growth properties Tarttuvat, klusterit

Säätelytiedot

MHH-ES1-solut | 300136

Citation	MHH-ES1 (Cytionin luettelonumero 300136)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Biomolekyytitiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla 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 väliaineita.
Seeding density	1-2 x 10 ⁴ solua/cm ²
Fluid renewal	3-5 päivän välein
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10 ⁴ solua/cm ² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

MHH-ES1-solut | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 jäädästä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

MHH-ES1-solut | 300136

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

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

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

HLA-alleelit

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