

MHH-ES1 sejtek | 300136

Általános információk

Description

Az MHH-ES1 sejtvonal egy Ewing-szarkómás betegtől származik, amely egy rendkívül agresszív, elsősorban gyermekeket és fiatal felnőtteket érintő csont- és lágyszöveti daganat. Ez a sejtvonal értékes modell a Ewing-szarkóma hátterében álló molekuláris mechanizmusok, különösen az EWSR1-FLI1 fúziós gén szerepének tanulmányozására, amely erre a ráktípusra jellemző. A fúziós gén a 11. és 22. kromoszóma közötti transzlokáció eredménye, amely egy onkogén transzkripciósfaktor termeléséhez vezet, amely a tumorigenezist irányítja. Az MHH-ES1-et, más Ewing-szarkóma sejtvonalakhoz hasonlóan, az EWSR1-FLI1 által befolyásolt útvonalak vizsgálatára használják, beleértve a sejtproliferáció, differenciálódás és apoptózis változásait.

A kutatók az MHH-ES1 sejtvonalat használják az Ewing-szarkóma túlélése és proliferációja szempontjából kritikus útvonalakat célzó különböző terápiás szerek hatékonyságának értékelésére. Például fontos szerepet játszik a kis molekulájú inhibitorok, az RNS-interferencia és a CRISPR-Cas9 génszerkesztési technikák tesztelésében, amelyek célja az EWSR1-FLI1 fúziós gén vagy annak downstream effektorainak megzavarása. Ezenkívül az MHH-ES1 modellként szolgál a hagyományos kemoterápiával szembeni rezisztenciamechanizmusok tanulmányozására, valamint az Ewing-szarkómás betegek korai diagnózisának és a kezelésre adott válasznak a nyomon követésére szolgáló új biomarkerek azonosítására.

Organism Emberi

Tissue Csont

Disease Ewing-szarkóma

Metastatic site Ascites

Synonyms MHH-ES-1, MHHES1

Jellemzők

Age 12 év

Gender Férfi

Ethnicity Török

Morphology Kis kerek cellák

Growth properties Megtapadó, klaszterek

Szabályozási adatok

MHH-ES1 sejtek | 300136

Citation	MHH-ES1 (Cytion katalógusszám: 300136)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1-2 x 10 ⁴ sejt/cm ²
Fluid renewal	3-5 naponta
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10 ⁴ sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

MHH-ES1 sejtek | 300136

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

MHH-ES1 sejtek | 300136

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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