

MHH-ES1 ląstelės | 300136

Bendra informacija

Description

MHH-ES1 ląstelių linija gauta iš paciento, sergančio Ewingo sarkoma - labai agresyviu kaulų ir minkštųjų audinių vėžiu, kuriuo dažniausiai serga vaikai ir jauni suaugusieji. Ši ląstelių linija yra vertingas modelis tiriant molekulinius mechanizmus, kuriais grindžiama Ewingo sarkoma, ypač šiam vėžio tipui būdingo EWSR1-FLI1 sintezės geno vaidmenį. Šis genas susilieja dėl translokacijos tarp 11 ir 22 chromosomų, todėl susidaro onkogeninis transkripcijos veiksnys, skatinantis navikinį vystymąsi. MHH-ES1, kaip ir kitos Ewingo sarkomos ląstelių linijos, naudojamos siekiant ištirti EWSR1-FLI1 įtakojamus kelius, įskaitant ląstelių proliferacijos, diferenciacijos ir apoptozės pokyčius.

Mokslininkai naudoja MHH-ES1 ląstelių liniją, kad įvertintų įvairių gydymų medžiagų, nukreiptų į kelius, svarbius Ewingo sarkomos išgyvenimui ir dauginimuisi, veiksmingumą. Pavyzdžiui, ji padeda išbandyti mažų molekulių inhibitorius, RNR interferenciją ir CRISPR-Cas9 genų redagavimo metodus, kuriais siekiama sutrikdyti EWSR1-FLI1 sintezės geną arba jo tolesnius efektorius. Be to, MHH-ES1 yra modelis, kuriuo galima tirti atsparumo įprastinei chemoterapijai mechanizmus ir nustatyti naujus biomarkerius, skirtus ankstyvai diagnozei ir gydymo atsako stebėsenai pacientams, sergantiems Ewingo sarkoma.

Organism

Žmogus

Tissue

Kaulas

Disease

Ewingo sarkoma

Metastatic site

Ascitas

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Charakteristikos

Age

12 metų

Gender

Vyras

Ethnicity

Turkijos

Morphology

Mažos apvalios ląstelės

Growth properties

Priglundę, klasteriai

Reguliavimo duomenys

MHH-ES1 ląstelės | 300136

Citation	MHH-ES1 (Cytion katalogo numeris 300136)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1411
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	--

Seeding density	$1-2 \times 10^4$ ląstelės/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	Kas 3-5 dienas
----------------------	----------------

Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm ² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
---------------------------	--

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

MHH-ES1 ląstelės | 300136

Thawing and
Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing
Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping
Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MHH-ES1 ląstelės | 300136

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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