

MHH-ES1 šūnas | 300136

Vispārīga informācija

Description

MHH-ES1 šūnu līnija ir iegūta no pacienta ar Jvinga sarkomu - ļoti agresīvu kaulu un mīksto audu vēzi, kas galvenokārt skar bērnus un jaunus pieaugušos. Šī šūnu līnija ir vērtīgs modelis, lai pētītu Evinga sarkomas molekulāros mehānismus, jo īpaši šim vēža tipam raksturīgā EWSR1-FLI1 fusion gēna nozīmi. Fusion gēns rodas translokācijas rezultātā starp 11. un 22. hromosomu, kā rezultātā rodas onkogēns transkripcijas faktors, kas veicina audzēja veidošanos. MHH-ES1, tāpat kā citas Jvinga sarkomas šūnu līnijas, tiek izmantota, lai pētītu EWSR1-FLI1 ietekmētos ceļus, tostarp šūnu proliferācijas, diferenciācijas un apoptozes izmaiņas.

Pētnieki izmanto MHH-ES1 šūnu līniju, lai novērtētu dažādu terapeitisko līdzekļu efektivitāti, kas vērsti uz ceļiem, kuri ir kritiski svarīgi Evinga sarkomas izdzīvošanai un proliferācijai. Piemēram, tā ir noderīga mazu molekulu inhibitoru, RNS interferences un CRISPR-Cas9 gēnu rediģēšanas metožu testēšanā, lai izjauktu EWSR1-FLI1 fusion gēnu vai tā pakārtotos efektorus. Turklāt MHH-ES1 kalpo kā modelis, lai pētītu rezistences mehānismus pret parasto ķīmijterapiju un noteiktu jaunus biomarkierus agrīnai diagnostikai un ārstēšanas atbildes reakcijas uzraudzībai Evinga sarkomas pacientiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Bone

Disease

Jvinga sarkoma

Metastatic site

Ascīts

Synonyms

MH-ES-1, MHES1

Raksturojums

Age

12 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Turcijas

Morphology

Mazas apaļas šūnas

Growth properties

Pieguļošas, kopas

Normatīvie dati

Citation

MHH-ES1 (Cytion kataloga numurs 300136)

MHH-ES1 šūnas | 300136

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
----------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
-------------	-------------------------------

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

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
--------------	--

Seeding density	1 līdz 2×10^4 šūnas/cm ²
-----------------	--

Fluid renewal	Ik pēc 3 līdz 5 dienām
---------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
--------------------	--

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

MHH-ES1 šūnas | 300136**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MHH-ES1 šūnas | 300136**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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