

MHH-ES1-cellen | 300136

Algemene informatie

Description

De MHH-ES1 cellijn is afkomstig van een patiënt met Ewing-sarcoom, een zeer agressieve bot- en weke delen kanker die voornamelijk voorkomt bij kinderen en jongvolwassenen. Deze cellijn is een waardevol model voor het bestuderen van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan Ewing-sarcoom, met name de rol van het fusiegen EWSR1-FLI1, dat kenmerkend is voor dit type kanker. Het fusiegen is het resultaat van een translocatie tussen chromosomen 11 en 22, wat leidt tot de productie van een oncogene transcriptiefactor die tumorigenese aanstuurt. MHH-ES1 wordt, net als andere Ewing-sarcoom cellijnen, gebruikt om de routes te onderzoeken die beïnvloed worden door EWSR1-FLI1, waaronder veranderingen in celproliferatie, differentiatie en apoptose.

Onderzoekers gebruiken de MHH-ES1 cellijn voor het evalueren van de werkzaamheid van verschillende therapeutische middelen die gericht zijn op pathways die cruciaal zijn voor de overleving en proliferatie van Ewing sarcomen. De lijn wordt bijvoorbeeld gebruikt voor het testen van kleine molecuulremmers, RNA-interferentie en CRISPR-Cas9-genbewerkingstechnieken die gericht zijn op het verstoren van het fusiegen EWSR1-FLI1 of zijn downstream effectoren. Daarnaast dient MHH-ES1 als model voor het bestuderen van resistentiemechanismen tegen conventionele chemotherapie en voor het identificeren van nieuwe biomarkers voor vroegtijdige diagnose en het monitoren van de respons op behandeling bij patiënten met Ewing-sarcoom.

Organism

Mens

Tissue

Bot

Disease

Sarcoom van Ewing

Metastatic site

Ascites

Synonyms

MHH-ES-1, MHHES1

Kenmerken

Age

12 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Turks

Morphology

Kleine ronde cellen

Growth properties

Klevend, clusters

MHH-ES1-cellen | 300136

Regelgevende gegevens

Citation	MHH-ES1 (Cytion catalogusnummer 300136)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411
Depositor	Hartmann

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:3 wordt aanbevolen
Seeding density	1 tot 2×10^4 cellen/cm ²
Fluid renewal	Om de 3 tot 5 dagen
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm ² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

MHH-ES1-cellen | 300136

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

MHH-ES1-cellen | 300136

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

CSF1PO: 11
D13S317: 8
D16S539: 11
D5S818: 13
D7S820: 9,11
TH01: 8,9
TPOX: 8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,32.2
D18S51: 14,16
Penta E: 11,15
Penta D: 11,12
D8S1179: 11,13
FGA: 22

HLA-allelen

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