

MHH-ES1-celler | 300136**Generell informasjon****Description**

MHH-ES1-cellelinjen stammer fra en pasient med Ewing-sarkom, en svært aggressiv kreftform i bein og bløtvev som hovedsakelig rammer barn og unge voksne. Denne cellelinjen er en verdifull modell for å studere de molekylære mekanismene som ligger til grunn for Ewing-sarkom, og spesielt rollen til fusjonsgenet EWSR1-FLI1, som er karakteristisk for denne krefttypen. Fusjonsgenet er et resultat av en translokasjon mellom kromosom 11 og 22, noe som fører til produksjon av en onkogen transkripsjonsfaktor som driver tumorigenesen. MHH-ES1, i likhet med andre cellelinjer fra Ewing-sarkom, brukes til å undersøke hvilke signalveier som påvirkes av EWSR1-FLI1, blant annet endringer i celleproliferasjon, differensiering og apoptose.

Forskere bruker MHH-ES1-cellelinjen til å evaluere effekten av ulike terapeutiske midler som retter seg mot veier som er kritiske for overlevelse og spredning av Ewing-sarkom. For eksempel er den viktig for å teste småmolekylære hemmere, RNA-interferens og CRISPR-Cas9-genredigeringsteknikker som tar sikte på å forstyrre EWSR1-FLI1-fusjonsgenet eller dets nedstrøms effektorer. MHH-ES1 fungerer dessuten som en modell for å studere resistensmekanismer mot konvensjonell kjemoterapi og for å identifisere nye biomarkører for tidlig diagnose og overvåking av behandlingsrespons hos Ewing-sarkompasienter.

Organism

Menneskelig

Tissue

Bein

Disease

Ewings sarkom

Metastatic site

Ascites

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Kjennetegn**Age**

12 år

Gender

Mann

Ethnicity

Tyrkisk

Morphology

Små runde celler

Growth properties

Vedhengende, klynger

Regulatoriske data

MHH-ES1-celler | 300136

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

Biomolekylære data**Håndtering**

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 anbefales
Seeding density	1 til 2×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm ² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

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

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MHH-ES1-celler | 300136

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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