

Komórki CADO-ES1 | 300127

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa CADO-ES1 została utworzona ze złośliwego wysięku opłucnowego pobranego od 19-letniej pacjentki, u której zdiagnozowano mięsaka Ewinga, zlokalizowanego głównie w prawym pośladku z licznymi przerzutami do płuc. Ta linia komórkowa stanowi cenne narzędzie do badań nad biologią mięsaków, w szczególności do badania procesów przerzutowych związanych z mięsakiem Ewinga. Jako choroba dotycząca głównie dzieci i młodych dorosłych, mięsak Ewinga charakteryzuje się małymi okrągłymi komórkami, które są wysoce złośliwe, często wykazują agresywne zachowanie i złe rokowanie, szczególnie w przypadku przerzutów.

Wyjątkowe komórki CADO-ES1 wykazują kilka krytycznych cech cennych dla dogłębnych badań nad rakiem. Są heterotransplantowalne, co oznacza, że mogą być przeszczepiane innym gatunkom (np. myszom), co ma kluczowe znaczenie dla badań in vivo. Zdolność ta czyni je solidnym modelem do badania wzrostu guza i przerzutów w kontrolowanym, ale biologicznie istotnym systemie. Dodatkowo, komórki te wykazały zdolność do wzrostu niezależnie od zakotwiczenia, co jest cechą typową dla wielu komórek nowotworowych, która pozwala im rozwijać się bez przylegania do macierzy zewnątrzkomórkowej. Co więcej, komórki CADO-ES1 mogą różnicować się neuronalnie w odpowiedzi na cykliczny AMP (cAMP), zapewniając unikalną perspektywę zachowań komórkowych, na które wpływają szlaki sygnałowe w progresji i różnicowaniu nowotworów.

Ta kombinacja cech sprawia, że CADO-ES1 jest ważnym modelem nie tylko dla zrozumienia patologii mięsaka Ewinga, ale także dla rozwoju i testowania ukierunkowanych terapii, które mogą hamować wzrost i rozprzestrzenianie się podobnych nowotworów. Badania wykorzystujące tę linię komórkową mogą przyczynić się do głębszego zrozumienia zachowania komórek nowotworowych, mechanizmów przerzutowania i potencjalnych celów terapeutycznych w mięsakach.

Organism

Człowiek

Tissue

Kość

Disease

Mięsak Ewinga

Synonyms

CADO-ES-1, CADO ES1, CADOES1, CADO-ES, Cado-ES, ESCADO1, Centrum Chorób Dorosłych Osaka-Ewing Sarcoma 1

Charakterystyka

Age

19 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Japoński

Morphology

Małe okrągłe komórki

Komórki CADO-ES1 | 300127

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation CADO-ES1 (numer katalogowy Cytion 300127)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1103

Dane biomolekularne

Receptors expressed CD99 (Eun Jung Lee, 2003)

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:5

Fluid renewal Co 3 do 4 dni

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Komórki CADO-ES1 | 300127

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Komórki CADO-ES1 | 300127

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 10,13
D16S539: 9,11
D5S818: 11,12
D7S820: 11,13
TH01: 6,9
TPOX: 8,11
vWA: 14,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 31,32.2
D18S51: 15,20
Penta E: 12,19
Penta D: 13
D8S1179: 12,15
FGA: 21,22

Komórki CADO-ES1 | 300127

Allele HLA

A*: '11:01:01, '24:02:01

B*: '15:01:01, '40:01:02

C*: '04:01:01, '07:02:01

DRB1*: '03:01:01, '04:05:01

DQA1*: '03:03:01

DQB1*: '02:01:01, '04:01:01

DPB1*: '02:01:02, '05:01:01

E: '01:01:01, '01:03:01