

Komórki MHH-ES1 | 300136

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa MHH-ES1 pochodzi od pacjenta z mięśniakiem Ewinga, wysoce agresywnym nowotworem kości i tkanek miękkich, dotykającym głównie dzieci i młodych dorosłych. Ta linia komórkowa jest cennym modelem do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw mięśniaka Ewinga, w szczególności roli genu fuzyjnego EWSR1-FLI1, który jest charakterystyczny dla tego typu nowotworu. Gen fuzyjny powstaje w wyniku translokacji między chromosomami 11 i 22, prowadząc do produkcji onkogenego czynnika transkrypcyjnego, który napędza proces nowotworzenia. MHH-ES1, podobnie jak inne linie komórkowe mięśniaka Ewinga, jest wykorzystywany do badania szlaków, na które wpływa EWSR1-FLI1, w tym zmian w proliferacji, różnicowaniu i apoptozie komórek.

Naukownicy wykorzystują linię komórkową MHH-ES1 do oceny skuteczności różnych środków terapeutycznych ukierunkowanych na szlaki krytyczne dla przeżycia i proliferacji mięśniaka Ewinga. Na przykład, odgrywa ona kluczową rolę w testowaniu inhibitorów małocząsteczkowych, interferencji RNA i technik edycji genów CRISPR-Cas9 mających na celu zakłócenie genu fuzyjnego EWSR1-FLI1 lub jego dalszych efektorów. Ponadto MHH-ES1 służy jako model do badania mechanizmów oporności na konwencjonalną chemioterapię oraz do identyfikacji nowych biomarkerów do wczesnego diagnozowania i monitorowania odpowiedzi na leczenie u pacjentów z mięśniakiem Ewinga.

Organism

Człowiek

Tissue

Kość

Disease

Mięsak Ewinga

Metastatic site

Wodobrzusze

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Charakterystyka

Age

12 lat

Gender

Męczyzna

Ethnicity

Turecki

Morphology

Małe okrągłe komórki

Growth properties

Przylegające, skupiska

Komórki MHH-ES1 | 300136

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
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	Zalecany jest stosunek 1:3
Seeding density	1 do 2×10^4 komórek/cm ²
Fluid renewal	Co 3 do 5 dni
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Komórki MHH-ES1 | 300136**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

Brak

Komórki MHH-ES1 | 300136**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 i analiza molekularna**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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

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

Komórki MHH-ES1 | 300136

Allele HLA

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