

Células MHH-ES1 | 300136**Informações gerais****Description**

A linha celular MHH-ES1 é derivada de um doente com sarcoma de Ewing, um cancro altamente agressivo dos ossos e dos tecidos moles que afecta predominantemente crianças e jovens adultos. Esta linha celular constitui um modelo valioso para o estudo dos mecanismos moleculares subjacentes ao sarcoma de Ewing, nomeadamente o papel do gene de fusão EWSR1-FLI1, que é caraterístico deste tipo de cancro. O gene de fusão resulta de uma translocação entre os cromossomas 11 e 22, levando à produção de um fator de transcrição oncogénico que impulsiona a tumorigénese. A MHH-ES1, tal como outras linhas celulares do sarcoma de Ewing, é utilizada para investigar as vias influenciadas pelo EWSR1-FLI1, incluindo alterações na proliferação, diferenciação e apoptose celulares.

Os investigadores utilizam a linha celular MHH-ES1 para avaliar a eficácia de vários agentes terapêuticos que têm como alvo vias críticas para a sobrevivência e proliferação do sarcoma de Ewing. Por exemplo, é fundamental para testar inibidores de pequenas moléculas, interferência de RNA e técnicas de edição de genes CRISPR-Cas9 destinadas a interromper o gene de fusão EWSR1-FLI1 ou os seus efectores a jusante. Além disso, o MHH-ES1 serve de modelo para estudar os mecanismos de resistência à quimioterapia convencional e para identificar novos biomarcadores para o diagnóstico precoce e a monitorização da resposta ao tratamento em doentes com sarcoma de Ewing.

Organism Humano**Tissue** Osso**Disease** Sarcoma de Ewing**Metastatic site** Ascite**Synonyms** MHH-ES-1, MHHES1**Caraterísticas****Age** 12 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Turco**Morphology** Pequenas células redondas**Growth properties** Aderente, aglomerados

Células MHH-ES1 | 300136**Dados regulamentares**

Citation	MHH-ES1 (número de catálogo Cytion 300136)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1 a 2×10^4 células/cm ²
Fluid renewal	A cada 3 a 5 dias
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm ² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células MHH-ES1 | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células MHH-ES1 | 300136

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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