

MHH-ES1-celler | 300136

Allmän information

Description

Cellinjen MHH-ES1 härrör från en patient med Ewing-sarkom, en mycket aggressiv ben- och mjukdelscancer som främst drabbar barn och unga vuxna. Denna cellinje är en värdefull modell för att studera de molekylära mekanismer som ligger bakom Ewing-sarkom, i synnerhet den roll som fusionsgenen EWSR1-FLI1, som är karakteristisk för denna cancertyp, spelar. Fusionsgenen är resultatet av en translokation mellan kromosomerna 11 och 22, vilket leder till produktion av en onkogen transkriptionsfaktor som driver tumörutvecklingen. MHH-ES1, liksom andra cellinjer för Ewing-sarkom, används för att undersöka de vägar som påverkas av EWSR1-FLI1, inklusive förändringar i cellproliferation, differentiering och apoptos.

Forskare använder cellinjen MHH-ES1 för att utvärdera effekten av olika terapeutiska medel som riktar in sig på vägar som är kritiska för överlevnad och spridning av Ewing-sarkom. Den är till exempel viktig för att testa småmolekylära inhibitorer, RNA-interferens och CRISPR-Cas9-genredigeringstekniker som syftar till att störa EWSR1-FLI1-fusionsgenen eller dess nedströms effektorer. MHH-ES1 fungerar dessutom som en modell för att studera resistensmekanismer mot konventionell kemoterapi och för att identifiera nya biomarkörer för tidig diagnos och övervakning av behandlingssvar hos patienter med Ewing-sarkom.

Organism

Människan

Tissue

Ben

Disease

Ewings sarkom

Metastatic site

Ascites

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Egenskaper

Age

12 år

Gender

Man

Ethnicity

Turkiska

Morphology

Små runda celler

Growth properties

Vidhäftande, kluster

Lagstadgade uppgifter

MHH-ES1-celler | 300136**Citation** MHH-ES1 (Cytion katalognummer 300136)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1411**Depositor** Hartmann**Biomolekylära data****Hantering****Culture Medium** RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:3 rekommenderas**Seeding density** 1 till 2×10^4 cell^{er}/cm²**Fluid renewal** Var 3:e till 5:e dag

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

MHH-ES1-celler | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbelägg; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

MHH-ES1-celler | 300136

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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