

Bunky MHH-ES1 | 300136**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia MHH-ES1 pochádza od pacienta s Ewingovým sarkómom, vysoko agresívnym nádorovým ochorením kostí a mäkkých tkanív, ktoré postihuje najmä deti a mladých dospelých. Táto bunková línia je cenným modelom na štúdium molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom Ewingovho sarkómu, najmä úlohy fúzneho génu EWSR1-FLI1, ktorý je charakteristický pre tento typ rakoviny. Fúzny gén je výsledkom translokácie medzi chromozómami 11 a 22, čo vedie k produkcii onkogénneho transkripčného faktora, ktorý podporuje nádorové bujnenie. MHH-ES1, podobne ako iné bunkové línie Ewingovho sarkómu, sa využíva na skúmanie dráh ovplyvnených EWSR1-FLI1 vrátane zmien v bunkovej proliferácii, diferenciácii a apoptóze.

Výskumníci používajú bunkovú líniu MHH-ES1 na hodnotenie účinnosti rôznych terapeutických látok zameraných na dráhy kritické pre prežívanie a proliferáciu Ewingovho sarkómu. Je napríklad nápomocná pri testovaní inhibítorov malých molekúl, interferencie RNA a techník úpravy génov CRISPR-Cas9 zameraných na narušenie fúzneho génu EWSR1-FLI1 alebo jeho následných efektorov. Okrem toho MHH-ES1 slúži ako model na štúdium mechanizmov rezistencie na konvenčnú chemoterapiu a na identifikáciu nových biomarkerov na včasnú diagnostiku a monitorovanie odpovede na liečbu u pacientov s Ewingovým sarkómom.

Organism

Ľudské

Tissue

Kosti

Disease

Ewingov sarkóm

Metastatic site

Ascites

Synonyms

MH-ES-1, MHES1

Charakteristika**Age**

12 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Turecký

Morphology

Malé okrúhle bunky

Growth properties

Priliehavé, zhluky

Regulačné údaje

Bunky MHH-ES1 | 300136**Citation** MHH-ES1 (katalógové číslo Cytion 300136)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1411**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1 až 2×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky MHH-ES1 | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky MHH-ES1 | 300136

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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