

Celice MHH-ES1 | 300136

Splošne informacije

Description

Celična linija MHH-ES1 je pridobljena od bolnika z Ewingovim sarkomom, zelo agresivnim rakom kosti in mehkih tkiv, ki prizadene predvsem otroke in mlade odrasle. Ta celična linija je dragocen model za preučevanje molekularnih mehanizmov, na katerih temelji sarkom Ewing, zlasti vloge fuzijskega gena EWSR1-FLI1, ki je značilen za to vrsto raka. Fuzijski gen je posledica translokacije med kromosomoma 11 in 22, kar vodi v nastanek onkogenega transkripcijskega faktorja, ki spodbuja tumorigenezo. MHH-ES1 se tako kot druge celične linije Ewingovega sarkoma uporablja za raziskovanje poti, na katere vpliva EWSR1-FLI1, vključno s spremembami celične proliferacije, diferenciacije in apoptoze.

Raziskovalci uporabljajo celično linijo MHH-ES1 za ocenjevanje učinkovitosti različnih terapevtskih sredstev, usmerjenih na poti, ki so ključne za preživetje in proliferacijo sarkoma Ewing. Tako je na primer uporabna pri testiranju inhibitorjev majhnih molekul, interference RNA in tehnik urejanja genov CRISPR-Cas9, katerih cilj je prekiniti fuzijski gen EWSR1-FLI1 ali njegove nadaljnje efektorje. Poleg tega MHH-ES1 služi kot model za preučevanje mehanizmov odpornosti na konvencionalno kemoterapijo in za identifikacijo novih biomarkerjev za zgodnje diagnosticiranje in spremljanje odziva na zdravljenje pri bolnikih z Ewingovim sarkomom.

Organism

Človek

Tissue

Kosti

Disease

Ewingov sarkom

Metastatic site

Ascites

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Značilnosti

Age

12 let

Gender

Moški

Ethnicity

Turški

Morphology

Majhne okrogle celice

Growth properties

Prilepljeni, skupki

Regulativni podatki

Celice MHH-ES1 | 300136

Citation	MHH-ES1 (katalogska številka Cytion 300136)
----------	---

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1411
----------------------	-----------

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
----------------	--

Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
-------------	------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
--------------	--

Seeding density	1 do 2×10^4 celic/cm ²
-----------------	--

Fluid renewal	Vsakih 3 do 5 dni
---------------	-------------------

Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel ^{ic} /cm ² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
--------------------	--

Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.
---------------	---

Celice MHH-ES1 | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MHH-ES1 | 300136

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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