

MHH-ES1 | 300136

Allgemeine Informationen

Description	Gegründet aus dem malignen Aszites (mit Peritonealmetastasen).
Organism	Menschen
Tissue	Knochen
Disease	Ewing-Sarkom
Metastatic site	Aszites
Synonyms	MHH-ES-1, MHHES1

Merkmale

Age	12 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Türkisch
Morphology	Kleine runde Zellen
Growth properties	Anhaftend, Clustern

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	MHH-ES1 (Cytion Katalognummer 300136)
Biosafety level	1
Depositor	Hartmann

Expression / Mutation

Handhabung

MHH-ES1 | 300136

Culture Medium	RPMI 1640
Medium supplements	10% FBS, w: 2,1 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃
Passaging solution	Accutase
Subculturing	Medium entfernen und die anhaftenden Zellen mit PBS ohne Kalzium und Magnesium spülen (3-5 ml PBS für T25-, 5-10 ml für T75-Zellkulturflaschen). Accutase zugeben (1-2 ml pro T25-, 2,5 ml pro T75-Zellkulturflasche), die Zellschicht muss vollständig bedeckt sein. Bei 37 Grad Celsius 10 Minuten lang inkubieren. Die Zellen vorsichtig mit Medium (10 ml) resuspendieren, 5 Minuten bei 300xg zentrifugieren, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Flaschen mit frischem Medium geben.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3
Seeding density	1 bis 2 x 10 ⁴ Zellen/cm ²
Fluid renewal	Alle 3 bis 5 Tage
Freezing recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit 5 x 10 ⁴ Zellen/cm ² plattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen.
Freeze medium	CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)
Handling of cryopreserved cultures	Die Zellen werden tiefgefroren auf Trockeneis versandt. Bitte stellen Sie sicher, dass das Fläschchen noch gefroren ist. Wenn eine sofortige Kultivierung nicht beabsichtigt ist, muss das Kryovial nach der Ankunft unter -150 Grad Celsius gelagert werden. Wenn eine sofortige Kultivierung beabsichtigt ist, befolgen Sie bitte die nachstehenden Anweisungen: Schnelles Auftauen durch schnelles Schütteln in einem 37 Grad Celsius warmen Wasserbad innerhalb von 40-60 Sekunden. Das Wasserbad sollte sauberes Wasser enthalten, das ein antimikrobielles Mittel enthält. Sobald die Probe aufgetaut ist, nehmen Sie das Kryovial aus dem Wasserbad. Es sollte noch ein kleiner Eisklumpen zurückbleiben und das Fläschchen sollte noch kalt sein. Von nun an sollten alle Operationen unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden. Überführen Sie das Kryovial in einen sterilen Durchflussschrank und wischen Sie es mit 70%igem Alkohol ab. Das Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium (Raumtemperatur) überführen. Die Zellen vorsichtig resuspendieren. Zentrifugieren Sie bei 300 x g für 3 Minuten und werfen Sie den Überstand. Der Zentrifugationsschritt kann ausgelassen werden, aber in diesem Fall müssen die Reste des Gefriermediums 24 Stunden später entfernt werden. Die Zellen vorsichtig in 10 ml frischem Zellkulturmedium resuspendieren und in zwei T25-Zellkulturflaschen überführen. Alle weiteren Schritte sind im Abschnitt Subkultur beschrieben.

MHH-ES1 | 300136

Handling of proliferating cultures

Eine oder zwei Zellkulturflaschen werden mit Zellkulturmedium gefüllt. Fangen Sie das gesamte Medium in 1 bzw. 2 x 50 ml Zentrifugenröhrchen auf. Geben Sie vorsichtig 5 ml Zellkulturmedium in jede T25-Zellkulturflasche. Kontrollieren Sie die Zellmorphologie und den Konfluenzgrad unter dem Mikroskop. Mindestens 24 Stunden lang bei 37 Grad Celsius inkubieren. Schleudern Sie das gesammelte Medium 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen zu sammeln, die sich während des Transports abgelöst haben könnten. Wenn ein Zellpellet sichtbar ist, die Zellen in 5 ml Zellkulturmedium resuspendieren und in eine T25-Zellkulturflasche überführen. Bei 37 Grad Celsius mindestens 24 Stunden lang bebrüten.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Mykoplasmen-Kontaminationen werden durch PCR- und Lumineszenz-basierte Mykoplasmen-Assays ausgeschlossen. Das Nichtvorhandensein von Bakterien-, Pilz- oder Hefekontaminationen wird durch tägliche visuelle Zellüberwachung kontrolliert.

STR profile

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-Allele

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