

MHH-ES1 Hücreleri | 300136**Genel bilgi****Description**

MHH-ES1 hücre hattı, ağırlıklı olarak çocukları ve genç yetişkinleri etkileyen oldukça agresif bir kemik ve yumuşak doku kanseri olan Ewing sarkomlu bir hastadan türetilmiştir. Bu hücre hattı, Ewing sarkomunun altında yatan moleküler mekanizmaları, özellikle de bu kanser türünün karakteristik özelliği olan EWSR1-FLI1 füzyon geninin rolünü incelemek için değerli bir modeldir. Füzyon geni, kromozom 11 ve 22 arasındaki bir translokasyondan kaynaklanır ve tümörigenezi yönlendiren onkogenik bir transkripsiyon faktörünün üretilmesine yol açar. MHH-ES1, diğer Ewing sarkomu hücre hatları gibi, hücre proliferasyonu, farklılaşma ve apoptozdaki değişiklikler de dahil olmak üzere EWSR1-FLI1 tarafından etkilenen yolları araştırmak için kullanılır.

Araştırmacılar, Ewing sarkomunun hayatta kalması ve çoğalması için kritik olan yolları hedef alan çeşitli terapötik ajanların etkinliğini değerlendirmek için MHH-ES1 hücre hattını kullanmaktadır. Örneğin, EWSR1-FLI1 füzyon genini veya aşağı akış efektörlerini bozmayı amaçlayan küçük molekül inhibitörlerini, RNA interferansını ve CRISPR-Cas9 gen düzenleme tekniklerini test etmede etkilidir. Ayrıca MHH-ES1, geleneksel kemoterapiye direnç mekanizmalarını incelemek ve Ewing sarkomu hastalarında erken tanı ve tedavi yanıtının izlenmesi için yeni biyobelirteçleri tanımlamak için bir model görevi görmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Kemik

Disease

Ewing Sarkomu

Metastatic site

Asit

Synonyms

MHH-ES-1, MHES1

Özellikler**Age**

12 yıl

Gender

Erkek

Ethnicity

Türkçe

Morphology

Küçük yuvarlak hücreler

Growth properties

Yapışık, kümeler

Düzenleyici Veriler

MHH-ES1 Hücreleri | 300136**Citation** MHH-ES1 (Cytion katalog numarası 300136)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1411**Biyomoleküler Veriler****Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1 ila 2×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** Her 3 ila 5 günde bir**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

MHH-ES1 Hücreleri | 300136**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

MHH-ES1 Hücreleri | 300136

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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