

**MHH-ES1-Zellen | 300136**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

Die MHH-ES1-Zelllinie stammt von einem Patienten mit Ewing-Sarkom, einem hochaggressiven Knochen- und Weichteilkrebs, der vorwiegend bei Kindern und jungen Erwachsenen auftritt. Diese Zelllinie ist ein wertvolles Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen, die dem Ewing-Sarkom zugrunde liegen, insbesondere der Rolle des EWSR1-FLI1-Fusionsgens, das für diese Krebsart charakteristisch ist. Das Fusionsgen entsteht durch eine Translokation zwischen den Chromosomen 11 und 22 und führt zur Produktion eines onkogenen Transkriptionsfaktors, der die Tumorentstehung antreibt. MHH-ES1 wird wie andere Ewing-Sarkom-Zelllinien verwendet, um die von EWSR1-FLI1 beeinflussten Stoffwechselwege zu untersuchen, einschließlich Veränderungen bei der Zellproliferation, Differenzierung und Apoptose.

Forscher nutzen die MHH-ES1-Zelllinie, um die Wirksamkeit verschiedener therapeutischer Wirkstoffe zu untersuchen, die auf Signalwege abzielen, die für das Überleben und die Vermehrung von Ewing-Sarkomen entscheidend sind. So ist sie beispielsweise ein wichtiges Instrument bei der Erprobung von niedermolekularen Inhibitoren, RNA-Interferenz und CRISPR-Cas9-Gene Editing-Techniken, die auf die Unterbrechung des EWSR1-FLI1-Fusionsgens oder seiner nachgeschalteten Effektoren abzielen. Darüber hinaus dient MHH-ES1 als Modell zur Untersuchung von Resistenzmechanismen gegenüber konventioneller Chemotherapie und zur Identifizierung neuartiger Biomarker für die Frühdiagnose und die Überwachung des Therapieansprechens bei Ewing-Sarkom-Patienten.

**Organism** Menschen

**Tissue** Knochen

**Disease** Ewing-Sarkom

**Metastatic site** Aszites

**Synonyms** MHH-ES-1, MHES1

**Merkmale**

**Age** 12 Jahre

**Gender** Männlich

**Ethnicity** Türkisch

**Morphology** Kleine runde Zellen

**Growth properties** Anhaftend, Clustern

## MHH-ES1-Zellen | 300136

## Regulatorische Daten

<b>Citation</b>	MHH-ES1 (Cytion Katalognummer 300136)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1411
<b>Depositor</b>	Hartmann

## Biomolekulare Daten

## Handhabung

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820700a)
<b>Supplements</b>	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
<b>Split ratio</b>	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3
<b>Seeding density</b>	1 bis $2 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Alle 3 bis 5 Tage
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von $5 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup> ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

### MHH-ES1-Zellen | 300136

#### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

#### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenen Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

#### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

#### Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

## MHH-ES1-Zellen | 300136

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### 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

**MHH-ES1-Zellen | 300136**

**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