

U-CH1-Zellen | 305885

Allgemeine Informationen

Description

Die U-CH1-Zelllinie ist das erste etablierte permanente menschliche Chordom-Zellmodell, das aus einem rezidivierenden sakralen Chordom gewonnen wurde. Chordome sind seltene, langsam wachsende, lokal invasive Tumoren, die aus Notochordresten entstehen und vor allem entlang des Achsenskeletts auftreten. U-CH1 weist für Chordome charakteristische zytogenetische Merkmale auf, darunter klonale Chromosomenaberrationen wie der(1)t(1;22), Deletionen auf den Chromosomen 4, 5, 6, 9, 10 und 20 sowie ein aus t(10;20) resultierendes Derivatchromosom 20. Die vergleichende genomische Hybridisierung ergab wiederkehrende Veränderungen der DNA-Kopienzahl in Chordomen, insbesondere Verluste auf 1p und 3p und Gewinne auf 7q, 5q, 12q und 20. Das zytogenetische Profil von U-CH1 spiegelt das seines Ausgangstumors wider, was seine biologische Relevanz unterstreicht.

Funktionell und molekular weisen U-CH1 und andere Chordom-Zelllinien charakteristische Merkmale von Chordomen auf, darunter die Expression von Brachyury, einem Transkriptionsfaktor, der als wichtiger diagnostischer Marker gilt. U-CH1 weist außerdem Deletionen von CDKN2A auf und es fehlt die Expression des p16-Proteins, eine wiederkehrende genetische Veränderung bei Chordomen. Diese Veränderung führt zu einer Hyperaktivierung des CDK4/6-Signalwegs, wodurch U-CH1 empfindlich gegenüber CDK4/6-Inhibitoren wie Palbociclib wird. Die Behandlung mit Palbociclib reduzierte die phosphorylierten Rb-Spiegel signifikant und hemmte die Proliferation in vitro, was darauf hindeutet, dass U-CH1 ein wertvolles präklinisches Modell für die Bewertung von Therapien sein kann, die auf den Zellzyklus abzielen. Die Zelllinie wurde auch durch mRNA- und Proteinprofilierung validiert, wodurch ihre Repräsentativität für primäre Chordomtumoren in Bezug auf Expression und genomische Muster bestätigt wurde.

Organism

Menschen

Tissue

Knochen, Kreuzbein

Disease

Sakrales Chordom

Synonyms

UCH-1, UCH1

Merkmale

Age

56 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Weiß

Morphology

Mesenchymähnlich, mit variablen Vakuolen

Cell type

Chordom

U-CH1-Zellen | 305885

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation U-CH1 (Cytion-Katalognummer 305885)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4988

Biomolekulare Daten

Mutational profile Mutation: TP53, einfach, p.Pro72Arg (c.215C>G), nicht näher bezeichnet

Handhabung

Culture Medium IMDM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820800a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ~1 Woche

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

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.

U-CH1-Zellen | 305885

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°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 adhären 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°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Eine Lagerung bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

U-CH1-Zellen | 305885

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.