Product sheet

U-CH1-cellen | 305885

Algemene informatie

Description	De U-CH1-cellijn is het eerste permanente humane chordoma-celmodel dat is ontwikkeld, afkomstig van een recidiverend sacraal chordoma. Chordomen zijn zeldzame, langzaam groeiende, lokaal invasieve tumoren die ontstaan uit notochordale restanten en voornamelijk voorkomen langs het axiale skelet. U-CH1 vertoont cytogenetische kenmerken die karakteristiek zijn voor chordomen, waaronder klonale chromosomale afwijkingen zoals der(1)t(1;22), deleties op chromosomen 4, 5, 6, 9, 10 en 20, en een afgeleid chromosoom 20 als gevolg van t(10;20). Vergelijkende genomische hybridisatie bracht terugkerende veranderingen in het aantal DNA-kopieën in chordomen aan het licht, met name verliezen op 1p en 3p en winsten op 7q, 5q, 12q en 20. Het cytogenetische profiel van U-CH1 komt nauw overeen met dat van de oorspronkelijke tumor, wat de biologische relevantie ervan versterkt. Functioneel en moleculair vertonen U-CH1 en andere chordoma-cellijnen kenmerkende eigenschappen van chordoma, waaronder de expressie van brachyury, een transcriptiefactor die als een belangrijke diagnostische marker wordt beschouwd. U-CH1 vertoont ook deleties van CDKN2A en mist p16-eiwitexpressie, een terugkerende genetische verandering in chordomen. Deze verandering leidt tot hyperactivatie van de CDK4/6-route, waardoor U-CH1 gevoelig wordt voor CDK4/6-remmers zoals palbociclib. Behandeling met palbociclib verminderde de gefosforyleerde Rb-niveaus aanzienlijk en remde de proliferatie in vitro, wat aangeeft dat U-CH1 een waardevol preklinisch model kan zijn voor het evalueren van op de celcyclus gerichte therapieën. De cellijn is ook gevalideerd door middel van mRNA- en eiwitprofilering, wat de representativiteit ervan voor primaire chordoomtumoren in expressie- en genomische patronen bevestigt.
Organism	Mens
Tissue	Bot, heiligbeen
Disease	Sacraal chordoma
Synonyms	UCH-1, UCH1

Kenmerken

Age	56 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Wit
Morphology	Mesenchymachtig, met variabele vacuolen
Cell type	Chordoma

U-CH1-cellen | 305885

Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	U-CH1 (Cytion-catalogusnummer 305885)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4988

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: TP53, eenvoudig, p.Pro72Arg (c.215C>G), niet gespecificeerd

Omgaan met

Culture Medium	IMDM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820800a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	~1 week
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.