

Клетки ETK-1 | 305529

Обща информация

Description

ETK-1 е клетъчна линия на човешки интрахепатален холангиокарцином (IHCCA), първоначално изолирана от асцитна течност на възрастен пациент със саркоматоиден холангиокарцином. Туморът, от който е получена ETK-1, е проявявал както тубулен аденокарцином, така и саркоматоидни компоненти, а клетъчната линия отразява саркоматоидния фенотип. Клетките ETK-1 растат адхезивно като еднороден епителиален монослой с вид на калдъръм, съставен главно от малки полигонални клетки с кръгли до овални ядра и изразени ядърца. Клетките в ранните пасажи демонстрираха време за удвояване на популацията от приблизително 70 часа и хипердиплоиден кариотип с модален брой хромозоми в средата на 70-те, което съответства на хромозомната нестабилност, типична за агресивните злокачествени новообразувания на жлъчните пътища.

От имунофенотипна гледна точка клетките ETK-1 експресират маркери на жлъчния епител, включително γ -глутамилтранспептидаза (GGT), цитокератин 18 (CK18) и цитокератин 19 (CK19), което потвърждава техния холангиоцитен произход. При базови условия те са отрицателни за маркери, свързани с хепатоцитите, като алфа-фетопротейн (AFP) и албумин. Клетките ETK-1 експресират виментин, което отразява техните саркоматоидни характеристики и частичния мезенхимен фенотип, докато липсва експресия на карциномембрионален антиген (CEA) и въглехидратен антиген 19-9 (CA19-9). Този профил на маркерите съответства на саркоматоидния компонент, наблюдаван в първичния тумор, и подчертава характеристики, съответстващи на свойства, подобни на епителиално-мезенхимния преход.

ETK-1 е бил използван и като модел за изучаване на клетъчната пластичност и диференциацията на клетъчните линии при холангиокарцином. Лечението с инхибитора на ДНК-метилтрансферазата 5-азациитидин предизвиква морфологични и фенотипни промени, което доведе до получаването на производна клетъчна линия с характеристики, подобни на тези на хепатоцитите, включително експресия на AFP, албумин, интегрин $\alpha 1$ и тромбopoетин, както и загуба на определени жлъчни маркери. В модели с ксенографи нелекуваните ETK-1 клетки образуват тумори, съответстващи на тубуларен аденокарцином, проявяващ дуктален фенотип. Тези резултати показват, че ETK-1 запазва пластичността на диференциацията и служи като ценна *in vitro* система за изследване на трансдиференциацията от жлъчен епител към хепатоцити, епигенетичната регулация и туморната хетерогенност при интрахепаталния холангиокарцином.

Organism

Човек

Tissue

Метастатичен

Disease

Холангиокарцином

Metastatic site

Асцит

Synonyms

ETK1

Характеристики

Age

61 години

Клетки ЕТК-1 | 305529

Gender	Жена
Ethnicity	Японски
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	ЕТК-1 (каталожен номер на Cytion 305529)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1206

Биомолекуларни данни

Mutational profile	Мутация: p.Arg175His, хомозиготна
--------------------	-----------------------------------

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 5 мин., 37 °C

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
--------------	---

Seeding density	от 1 до 3×10^4 клетки/cm ²
-----------------	--

Клетки ETK-1 | 305529

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично**Post-Thaw Recovery** След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/ cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.**Shipping Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки ЕТК-1 | 305529

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ