

Buňky ETK-1 | 305529

Obecné informace

Description

ETK-1 je lidská buněčná linie intrahepatálního cholangiokarcinomu (IHCCA), původně izolovaná z ascitické tekutiny dospělého pacienta se sarkomatoidním cholangiokarcinomem. Nádor, z něhož byla ETK-1 odvozena, vykazoval jak tubulární adenokarcinom, tak sarkomatoidní složky, přičemž buněčná linie odráží sarkomatoidní fenotyp. Buňky ETK-1 rostou adhezivně jako jednotná epitelální monovrstva s dlažebkovitým vzhledem, složená převážně z malých polygonálních buněk s kulatými až oválnými jádry a výraznými jádřinci. Buňky v raných pasážích vykazovaly dobu zdvojnásobení populace přibližně 70 hodin a hyperdiploidní karyotyp s modálním počtem chromozomů v polovině 70. let, což odpovídá chromozomální nestabilitě typické pro agresivní zhoubné nádory žlučových cest.

Z imunofenotypického hlediska buňky ETK-1 exprimují markery žlučového epitelu, včetně γ -glutamyltranspeptidázy (GGT), cytokeratinu 18 (CK18) a cytokeratinu 19 (CK19), což potvrzuje jejich cholangioocytární původ. Za bazálních podmínek jsou negativní na markery asociované s hepatocyty, jako je alfa-fetoprotein (AFP) a albumin. Buňky ETK-1 exprimují vimentin, což odráží jejich sarkomatoidní charakteristiky a částečný mezenchymální fenotyp, zatímco neexprimují karcinoembryonální antigen (CEA) a sacharidový antigen 19-9 (CA19-9). Tento profil markerů odpovídá sarkomatoidní složce pozorované v primárním nádoru a zdůrazňuje rysy odpovídající vlastnostem podobným epitelálně-mezenchymální transici.

ETK-1 se také používá jako model ke studiu buněčné plasticity a diferenciaci buněčných linií u cholangiokarcinomu. Léčba inhibitorem DNA-methyltransferázy 5-azacytidinem vyvolala morfologické a fenotypové změny, což vedlo k vytvoření odvozené buněčné linie s vlastnostmi podobnými hepatocytům, včetně exprese AFP, albuminu, integrinu $\alpha 1$ a trombopoetinu, spolu se ztrátou určitých žlučových markerů. V modelech s xenotransplantáty tvoří neléčené buňky ETK-1 nádory odpovídající tubulárnímu adenokarcinomu vykazujícímu duktální fenotyp. Tyto nálezy dokazují, že ETK-1 si zachovává diferenciací plasticitu a slouží jako cenný in vitro systém pro zkoumání transdiferenciaci žlučového epitelu na hepatocyty, epigenetické regulace a nádorové heterogenity u intrahepatálního cholangiokarcinomu.

Organism Člověk**Tissue** Metastatické**Disease** Cholangiokarcinom**Metastatic site** Ascites**Synonyms** ETK1

Charakteristika

Age 61 let**Gender** Ženy

Buňky ETK-1 | 305529

Ethnicity Japonský**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation ETK-1 (katalogové číslo Cytion 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: p.Arg175His, homozygotní

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Seeding density 1 až 3×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky ETK-1 | 305529

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsáno v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza