

ETK-1-celler | 305529

Generel information

Description

ETK-1 er en human cellelinje fra intrahepatisk cholangiocarcinom (IHCCA), der oprindeligt blev etableret ud fra ascitesvæske fra en voksen patient med sarkomatoide cholangiocarcinom. Den tumor, som ETK-1 stammer fra, udviste både tubulært adenokarcinom og sarkomatoide komponenter, og cellelinjen afspejler den sarkomatoide fænotype. ETK-1-celler vokser ved vedhæftning som et ensartet epitelmonolag med et brostenslignende udseende, der hovedsageligt består af små polygonale celler med runde til ovale kerner og markante nukleoler. Celler i de tidlige passager udviste en fordoblingstid på ca. 70 timer og en hyperdiploid karyotype med et modalt kromosomantal i midten af 70'erne, hvilket er i overensstemmelse med den kromosomale ustabilitet, der er typisk for aggressive maligniteter i galdeveje.

Immunofenotypisk udtrykker ETK-1-celler markører for galdevejs-epitel, herunder γ -glutamyltranspeptidase (GGT), cytokeratin 18 (CK18) og cytokeratin 19 (CK19), hvilket bekræfter deres kolangiocytiske oprindelse. De er negative for hepatocyt-associerede markører såsom alfa-fetoprotein (AFP) og albumin under basale betingelser. ETK-1-celler udtrykker vimentin, hvilket afspejler deres sarkomatoide karakteristika og delvist mesenkymale fænotype, mens de mangler ekspresion af karcinoembryonalt antigen (CEA) og kulhydratantigen 19-9 (CA19-9). Denne markørprofil svarer til den sarkomatoide komponent, der observeres i den primære tumor, og fremhæver træk, der er i overensstemmelse med egenskaber, der ligner epitel-mesenkym-overgang.

ETK-1 er også blevet anvendt som model til at undersøge cellulær plasticitet og stamcelle-differentiering i cholangiocarcinom. Behandling med DNA-metyltransferasehæmmeren 5-azacytidin inducerede morfologiske og fænotypiske ændringer, hvilket resulterede i en afledt cellelinje med hepatocyt-lignende træk, herunder ekspresion af AFP, albumin, integrin $\alpha 1$ og trombopoietin, sammen med tab af visse galdevejsmarkører. I xenotransplantatmodeller danner ubehandlede ETK-1-celler tumorer, der svarer til tubulært adenokarcinom med en duktal fænotype. Disse fund viser, at ETK-1 bevarer differentieringsplasticitet og fungerer som et værdifuldt in vitro-system til undersøgelse af transdifferentiering fra galdevejs-epitel til hepatocytter, epigenetisk regulering og tumorheterogenitet ved intrahepatisk kolangiocarcinom.

Organism

Menneske

Tissue

Metastatisk

Disease

Kolangiocarcinom

Metastatic site

Ascites

Synonyms

ETK1

Karakteristika

Age

61 år

Gender

Kvinde

ETK-1-celler | 305529

Ethnicity Japansk**Growth properties** Vedhæftende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Mutational profile Mutation: p.Arg175His, homozygot

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1 til 3×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

ETK-1-celler | 305529

Post-Thaw Recovery

Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningssprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse