

ETK-1-Zellen | 305529

Allgemeine Informationen

Description

ETK-1 ist eine menschliche Zelllinie des intrahepatischen Cholangiokarzinoms (IHCCA), die ursprünglich aus der Aszitesflüssigkeit eines erwachsenen Patienten mit sarkomatoidem Cholangiokarzinom gewonnen wurde. Der Tumor, aus dem ETK-1 gewonnen wurde, wies sowohl tubuläre Adenokarzinom- als auch sarkomatoide Komponenten auf, und die Zelllinie spiegelt den sarkomatoiden Phänotyp wider. ETK-1-Zellen wachsen adhärent als einheitliche Epithelmonoschicht mit Kopfsteinpflaster-Muster, die hauptsächlich aus kleinen polygonalen Zellen mit runden bis ovalen Kernen und markanten Nukleolen besteht. Zellen in frühen Passagen wiesen eine Populationsverdopplungszeit von etwa 70 Stunden und einen hyperdiploiden Karyotyp mit einer modalen Chromosomenzahl im mittleren 70er-Bereich auf, was mit der für aggressive Malignome der Gallenwege typischen chromosomalen Instabilität übereinstimmt.

Immunphänotypisch exprimieren ETK-1-Zellen Marker des Gallengangsepithels, darunter γ -Glutamyltranspeptidase (GGT), Zytokeratin 18 (CK18) und Zytokeratin 19 (CK19), was ihren cholangiozytären Ursprung bestätigt. Unter basalen Bedingungen sind sie negativ für hepatozytenassoziierte Marker wie Alpha-Fetoprotein (AFP) und Albumin. ETK-1-Zellen exprimieren Vimentin, was ihre sarkomatoiden Merkmale und ihren partiellen mesenchymalen Phänotyp widerspiegelt, während ihnen die Expression des karzinoembryonalen Antigens (CEA) und des Kohlenhydrat-Antigens 19-9 (CA19-9) fehlt. Dieses Markerprofil entspricht der im Primärtumor beobachteten sarkomatoiden Komponente und unterstreicht Merkmale, die mit Eigenschaften im Sinne einer epithelial-mesenchymalen Transition übereinstimmen.

ETK-1 wurde zudem als Modell zur Untersuchung der zellulären Plastizität und der Differenzierung entlang der Zelllinie beim Cholangiokarzinom verwendet. Die Behandlung mit dem DNA-Methyltransferase-Inhibitor 5-Azacytidin induzierte morphologische und phänotypische Veränderungen, was zu einer abgeleiteten Zelllinie mit hepatozytenähnlichen Merkmalen führte, darunter die Expression von AFP, Albumin, Integrin $\alpha 1$ und Thrombopoietin sowie der Verlust bestimmter Gallenmarker. In Xenotransplantatmodellen bilden unbehandelte ETK-1-Zellen Tumoren, die mit einem tubulären Adenokarzinom übereinstimmen und einen dukталen Phänotyp aufweisen. Diese Ergebnisse zeigen, dass ETK-1 seine Differenzierungsplastizität beibehält und als wertvolles In-vitro-System zur Untersuchung der Transdifferenzierung von Gallengangsepithel zu Hepatozyten, der epigenetischen Regulation sowie der Tumorheterogenität beim intrahepatischen Cholangiokarzinom dient.

Organism	Menschen
----------	----------

Tissue	Metastasen
--------	------------

Disease	Cholangiokarzinom
---------	-------------------

Metastatic site	Aszites
-----------------	---------

Synonyms	ETK1
----------	------

Merkmale

Age	61 Jahre
-----	----------

ETK-1-Zellen | 305529

Gender Weiblich**Ethnicity** Japanisch**Growth properties** Adhärent

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Mutational profile Mutation: p.Arg175His, homozygot

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 Min., 37 °C

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Seeding density 1 bis 3×10^4 Zellen/cm²

ETK-1-Zellen | 305529

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

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 °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. Die Mischung 5 Minuten lang bei 200 x g zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen.
7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

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 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

ETK-1-Zellen | 305529

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse