

Κύτταρα ETK-1 | 305529

Γενικές πληροφορίες

Description

Η ETK-1 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά ενδοηπατικού χολαγγειοκαρκινώματος (IHCCA), η οποία δημιουργήθηκε αρχικά από το ασκитικό υγρό ενός ενήλικου ασθενούς με σαρκωματοειδές χολαγγειοκαρκίνωμα. Ο όγκος από τον οποίο προήλθε η ETK-1 παρουσίαζε τόσο σωληνοειδές αδеноκαρκίνωμα όσο και σαρκωματοειδή συστατικά, και η κυτταρική σειρά αντανάκλα τον σαρκωματοειδή φαινότυπο. Τα κύτταρα ETK-1 αναπτύσσονται προσκολλητικά ως ομοιόμορφη επιθηλιακή μονοστρωματική στρώση με εμφάνιση λιθόστρωτου, αποτελούμενη κυρίως από μικρά πολυγωνικά κύτταρα με στρογγυλούς έως ωοειδείς πυρήνες και εμφανή πυρήνια. Τα κύτταρα πρώιμων πασσάσεων παρουσίασαν χρόνο διπλασιασμού του πληθυσμού περίπου 70 ωρών και υπερδιπλοειδή καρυότυπο με μέσο αριθμό χρωμοσωμάτων στα μέσα της δεκαετίας των 70, κάτι που συνάδει με τη χρωμοσωμική αστάθεια που είναι χαρακτηριστική των επιθετικών κακοηθειών του χολικού συστήματος.

Από ανοσοφαινοτυπική άποψη, τα κύτταρα ETK-1 εκφράζουν δείκτες χολικού επιθηλίου, συμπεριλαμβανομένης της γ-γλουταμυλ τρανσπεπτιδάσης (GGT), της κυτοκερατίνης 18 (CK18) και της κυτοκερατίνης 19 (CK19), επιβεβαιώνοντας τη χολαγγειοκυτταρική τους προέλευση. Είναι αρνητικά ως προς δείκτες που σχετίζονται με τα ηπατοκύτταρα, όπως η άλφα-φετοπρωτεΐνη (AFP) και η αλβουμίνη, υπό βασικές συνθήκες. Τα κύτταρα ETK-1 εκφράζουν βιμεντίνη, γεγονός που αντανάκλα τα σαρκωματοειδή χαρακτηριστικά τους και τον μερικό μεσεγχυματικό φαινότυπο, ενώ δεν εκφράζουν το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) και το υδατάνθρακα αντιγόνο 19-9 (CA19-9). Αυτό το προφίλ δεικτών αντιστοιχεί στη σαρκωματοειδή συνιστώσα που παρατηρείται στον πρωτογενή όγκο και υπογραμμίζει χαρακτηριστικά που συνάδουν με ιδιότητες τύπου επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης.

Το ETK-1 έχει επίσης χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη μελέτη της κυτταρικής πλαστικότητας και της διαφοροποίησης της κυτταρικής σειράς στο χολαγγειοκαρκίνωμα. Η θεραπεία με τον αναστολέα της μεθυλοτρανσφεράσης του DNA, την 5-αζακυτιδίνη, προκάλεσε μορφολογικές και φαινοτυπικές αλλαγές, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας παράγωγης κυτταρικής σειράς με χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά των ηπατοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης της AFP, της αλβουμίνης, της ιντεγκρίνης α1 και της θρομβοποιητίνης, καθώς και της απώλειας ορισμένων χολικών δεικτών. Σε μοντέλα ξενομοσχεύματος, τα μη επεξεργασμένα κύτταρα ETK-1 σχηματίζουν όγκους που συνάδουν με σωληνοειδές αδеноκαρκίνωμα, παρουσιάζοντας έναν αγωγικό φαινότυπο. Αυτά τα ευρήματα καταδεικνύουν ότι η σειρά ETK-1 διατηρεί την πλαστικότητα διαφοροποίησης και αποτελεί ένα πολύτιμο σύστημα in vitro για τη μελέτη της μεταδιαφοροποίησης από χολικό επιθήλιο σε ηπατοκύτταρα, της επιγενετικής ρύθμισης και της ετερογένειας των όγκων στο ενδοηπατικό χολαγγειοκαρκίνωμα.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Μεταστατικό

Disease Χολαγγειοκαρκίνωμα

Metastatic site Ασκήτης

Synonyms ETK1

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα ETK-1 | 305529

Age 61 χρόνια**Gender** Γυναίκα**Ethnicity** Ιαπωνικά**Growth properties** Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile Μετάλλαξη: p.Arg175His, ομόζυγη

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 λεπτά, 37 °C

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμειξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα ETK-1 | 305529

Seeding density 1 έως 3×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Κύτταρα ETK-1 | 305529

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση