

ETK-1 rakud | 305529

Üldine teave

Description

ETK-1 on inimese intrahepaatiline kolangiokartsinoomi (IHCCA) rakuliin, mis loodi algselt sarkomatoidse kolangiokartsinoomiga täiskasvanud patsiendi astsiitvedelikust. Kasvaja, millest ETK-1 pärineb, sisaldas nii tubulaarset adenokartsinoomi kui ka sarkomatoidseid komponente, ning rakuliin peegeldab sarkomatoidset fenotüüpi. ETK-1 rakud kasvavad adhesiivselt ühtlase epiteelmonokihina, millel on munakivimuster, koosnedes peamiselt väikestest polügonaalsetest rakkudest, millel on ümmargused kuni ovaalsed tuumad ja silmapaistvad tuumakesed. Varajaste passaažide rakkudel oli populatsiooni kahekordistumisaeg ligikaudu 70 tundi ja hüperdiploidset kariootüüpi, mille modaalne kromosoomide arv oli 70ndate keskel, mis on kooskõlas agressiivsetele sapiteede pahaloomulistele kasvajatele iseloomuliku kromosoomide ebastabiilsusega.

Immunofenotüübiliselt ekspresseerivad ETK-1 rakud sapiteede epiteeli markereid, sealhulgas γ -glutamüültranspeptidaasi (GGT), tsütokeratini 18 (CK18) ja tsütokeratini 19 (CK19), mis kinnitab nende kolangiotsüütilist päritolu. Baasolukorras on need negatiivsed hepatotsüütidega seotud markerite, nagu alfa-fetoproteiini (AFP) ja albumiini suhtes. ETK-1-rakud ekspresseerivad vimentiini, mis peegeldab nende sarkomatoidseid omadusi ja osalist mesenküümse fenotüüpi, samas kui neil puudub kartsinoembrüonaalse antigeeni (CEA) ja süsivesikute antigeeni 19-9 (CA19-9) ekspressioon. See markeriprofiil vastab primaartuumoris täheldatud sarkomatoidsele komponendile ja toob esile tunnuseid, mis on kooskõlas epiteel-mesenküümse ülemineku sarnaste omadustega.

ETK-1-i on kasutatud ka mudelina kolangiokartsinoomi rakkude plastilisuse ja liini diferentseerumise uurimiseks. Ravi DNA-metüültransferaasi inhibiitoriga 5-atsatsütidiiniga indutseeris morfoloogilisi ja fenotüübilisi muutusi, mille tulemusena tekkis derivaatne rakuliin, millel olid hepatotsüütidele sarnased tunnused, sealhulgas AFP, albumiini, integriini $\alpha 1$ ja trombopoeetiini ekspressioon, koos teatud sapiteede markerite kadumisega. Ksenotransplantaadi mudelites moodustavad ravimata ETK-1 rakud kasvajaid, mis vastavad duktaalse fenotüübiga tubulaarsele adenokartsinoomile. Need tulemused näitavad, et ETK-1 säilitab diferentseerumisplastilisuse ja on väärtuslik in vitro süsteem intrahepaatilise kolangiokartsinoomi sapiteede epiteeli hepatotsüütideks ümberdiferentseerumise, epigeneetilise regulatsiooni ja kasvaja heterogeensuse uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Metastaatiline

Disease Kolangiokartsinoom

Metastatic site Astsiit

Synonyms ETK1

Omadused

Age 61 aastat

Gender Naised

ETK-1 rakud | 305529

Ethnicity Jaapani**Growth properties** Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation ETK-1 (Cytioni katalooginumbr 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: p.Arg175His, homosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min, 37 °C

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density $1-3 \times 10^4$ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

ETK-1 rakud | 305529

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs