

ETK-1-solut | 305529

Yleisiä tietoja

Description

ETK-1 on ihmisen intrahepaattisen kolangiokarsinooman (IHCCA) solulinja, joka on alun perin perustettu sarkomatoidista kolangiokarsinoomasta kärsivän aikuispotilaan askitesnesteestä. Kasvain, josta ETK-1 on peräisin, sisälsi sekä tubulaarisen adenokarsinooman että sarkomatoidisia komponentteja, ja solulinja heijastaa sarkomatoidista fenotyyppiä. ETK-1-solut kasvavat kiinnittyneinä yhtenäisenä epiteelimonokerroksena, jolla on mukulakivimäinen ulkonäkö ja joka koostuu pääasiassa pienistä monikulmaisista soluista, joilla on pyöreät tai soikeat tumat ja selvästi erottuvat nukleolit. Varhaisvaiheen solujen populaation kaksinkertaistumisaika oli noin 70 tuntia, ja niillä oli hyperdiploidinen karyotyyppi, jonka modaalinen kromosomiluku oli 70:n puolivälissä, mikä on yhdenmukaista aggressiivisille sappiteiden pahanlaatuisille kasvaimille tyypillisen kromosomisen epävakaan kanssa.

Immunofenotyyppisesti ETK-1-solut ilmentävät sappiteiden epiteelimarkkereita, kuten γ -glutamyltranspeptidaasia (GGT), sytokeratiinia 18 (CK18) ja sytokeratiinia 19 (CK19), mikä vahvistaa niiden kolangiokyttisen alkuperän. Ne ovat negatiivisia hepatosyyttien merkkiaineille, kuten alfa-fetoproteiinille (AFP) ja albumiinille, perusolosuhteissa. ETK-1-solut ilmentävät vimentiniä, mikä heijastaa niiden sarkomatoidisia ominaisuuksia ja osittaista mesenkymaalisia fenotyyppiä, mutta niiltä puuttuu karsinoembryonaalisen antigeenin (CEA) ja hiilihydraattiantigeeni 19-9:n (CA19-9) ilmentyminen. Tämä merkkiaineprofiili vastaa primaarituumorissa havaittua sarkomatoidista komponenttia ja korostaa piirteitä, jotka ovat yhdenmukaisia epiteeli-mesenkymaalisia siirtymiä muistuttavien ominaisuuksien kanssa.

ETK-1:tä on käytetty myös mallina kolangiokarsinooman solujen plastisuuden ja solulinjan erilaistumisen tutkimiseen. Hoito DNA-metyylitransferaasi-inhibiittorilla 5-atsasytidiinillä indusoi morfologisia ja fenotyyppisiä muutoksia, mikä johti johdannaisisolulinjaan, jolla oli hepatosyyttimäisiä piirteitä, mukaan lukien AFP:n, albumiinin, integriini $\alpha 1$:n ja trombopoietiniin ilmentyminen sekä tiettyjen sappimarkkerien menetys. Ksenotransplantaattimalleissa hoitamattomat ETK-1-solut muodostavat kasvaimia, jotka vastaavat tubulaarista adenokarsinoomaa ja joilla on duktaalinen fenotyyppi. Nämä havainnot osoittavat, että ETK-1 säilyttää erilaistumiskyvyn ja toimii arvokkaana in vitro -järjestelmänä tutkittaessa sappiteiden epiteelisolujen transdifferenssia hepatosyyteiksi, epigeneettistä säätelyä ja kasvaimen heterogeenisyyttä intrahepaattisessa kolangiokarsinoomassa.

Organism Ihminen

Tissue Metastaattinen

Disease Kolangiokarsinooma

Metastatic site Askites

Synonyms ETK1

Ominaisuudet

Age 61 vuotta

ETK-1-solut | 305529

Gender Nainen**Ethnicity** Japanilainen**Growth properties** Tarttuva

Säätelytiedot

Citation ETK-1 (Cytionin tuotenumero 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206

Biomolekyylitiedot

Mutational profile Mutaatio: p.Arg175His, homotsygootti

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** $1-3 \times 10^4$ solua/cm²

ETK-1-solut | 305529

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.**Shipping Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

ETK-1-solut | 305529

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi