

ETK-1 sejtek | 305529

Általános információk

Description

Az ETK-1 egy humán intrahepatikus kolangiokarcinóma (IHCCA) sejtvonal, amelyet eredetileg egy szarkomatoid kolangiokarcinómában szenvedő felnőtt beteg ascites-folyadékából állítottak elő. Az a daganat, amelyből az ETK-1-et nyerték, mind tubuláris adenokarcinómás, mind szarkomatoid komponenseket mutatott, és a sejtvonal a szarkomatoid fenotípust tükrözi. Az ETK-1 sejtek adhezív módon, egységes, macskaköves megjelenésű epiteliális monorétegként növekednek, amely főként kerek vagy ovális maggal és jól látható nukleolusokkal rendelkező kis sokszögletű sejtekből áll. A korai passzázsú sejtek populáció-megduplázódási ideje körülbelül 70 óra volt, és hiperdiploid kariotípust mutattak, amelynek modális kromoszómaszáma a 70-es évek közepén volt, ami összhangban áll az agresszív epeúti rosszindulatú daganatokra jellemző kromoszómális instabilitással.

Immunfenotípusuk szerint az ETK-1 sejtek expresszálják az epeúti epiteliális markereket, beleértve a γ -glutamil-transzpeptidázt (GGT), a citokeratin 18-at (CK18) és a citokeratin 19-et (CK19), ami megerősíti kolangiocitikus eredetüket. Alapállapotban negatívak a hepatocitákhoz kapcsolódó markerekre, például az alfa-fetoproteinre (AFP) és az albuminra. Az ETK-1 sejtek vimentint expresszálnak, ami szarkomatoid jellemzőiket és részleges mezenchimális fenotípusukat tükrözi, miközben nem expresszálják a karcinoembrionális antigént (CEA) és a 19-9-es szénhidrát-antigént (CA19-9). Ez a markerkép megfelel az elsődleges daganatban megfigyelt szarkomatoid komponensnek, és kiemeli az epiteliális-mezenchimális átalakuláshoz hasonló tulajdonságokkal összhangban lévő jellemzőket.

Az ETK-1-et modellként is használták a kolangiokarcinómában a sejtplaszticitás és a vonaldifferenciálódás vizsgálatára. A DNS-metiltranszferáz-gátló 5-azacitidinnel végzett kezelés morfológiai és fenotípusbeli változásokat váltott ki, ami egy olyan származékos sejtvonalat eredményezett, amely hepatocita-szerű jellemzőkkel rendelkezett, beleértve az AFP, az albumin, az integrin $\alpha 1$ és a trombopoietin expresszióját, valamint bizonyos epeúti markerek elvesztését. Xenotranszplantációs modellekben a kezeletlen ETK-1 sejtek csatornás adenokarcinómára jellemző, csatornás fenotípust mutató daganatokat képeznek. Ezek az eredmények bizonyítják, hogy az ETK-1 megőrzi a differenciálódási plaszticitását, és értékes in vitro rendszerként szolgál az intrahepatikus kolangiokarcinómában előforduló epeúti epiteliális-hepatocitikus transzdifferentiálódás, az epigenetikus szabályozás és a tumorheterogenitás vizsgálatához.

Organism	Emberi
Tissue	Metasztatikus
Disease	Epevezeték-rák
Metastatic site	Ascites
Synonyms	ETK1

Jellemzők

Age	61 év
-----	-------

ETK-1 sejtek | 305529

Gender Női**Ethnicity** Japán**Growth properties** Adherent

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

Mutational profile Mutáció: p.Arg175His, homozigóta

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase, 5 perc, 37 °C

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density $1-3 \times 10^4$ sejt/cm²

ETK-1 sejtek | 305529

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.**Shipping Conditions** A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.**Storage Conditions** Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés