

ETK-1 ląstelės | 305529

Bendra informacija

Description

ETK-1 yra žmogaus intrahepatinės cholangiokarcinomos (IHCCA) ląstelių linija, iš pradžių išskirta iš suaugusio paciento, sergančio sarkomatoidine cholangiokarcinoma, ascito skysčio. Navikas, iš kurio buvo gauta ETK-1, turėjo tiek tubulinės adenokarcinomos, tiek sarkomatoidinių komponentų, o ląstelių linija atspindi sarkomatoidinį fenotipą. ETK-1 ląstelės auga adhezyviai kaip vienalytis epitelinis monosluoksnis, primenantis akmenukų grindinį, susidedantis daugiausia iš mažų daugiakampių ląstelių su apvaliais arba ovalo formos branduoliais ir ryškiais branduolėliais. Ankstyvųjų pasėlių ląstelės pasižymėjo populiacijos padvigubėjimo trukme, siekiančia maždaug 70 valandų, ir hiperdiploidiniu kariotipu, kurio modalusis chromosomų skaičius buvo apie 75, o tai atitinka agresyviems tulžies takų piktybiams navikams būdingą chromosominį nestabilumą.

Imunofenotipiškai ETK-1 ląstelės ekspresuoja tulžies takų epitelio žymenis, įskaitant γ -glutamiltanspeptidazę (GGT), citocheratiną 18 (CK18) ir citocheratiną 19 (CK19), patvirtindamos savo cholangiocitinę kilmę. Bazinėmis sąlygomis jos yra neigiamos hepatocitams būdingų žymenų, tokių kaip alfa-fetoproteinas (AFP) ir albuminas, atžvilgiu. ETK-1 ląstelės ekspresuoja vimentiną, o tai atspindi jų sarkomatoidines savybes ir dalinį mezenchiminį fenotipą, tačiau jose neekspresuojamas karcinoembrioninis antigenas (CEA) ir angliavandenių antigenas 19-9 (CA19-9). Šis žymenų profilis atitinka pirminėje navikoje stebimą sarkomatoidinį komponentą ir išryškina bruožus, būdingus epitelio-mezenchiminio perėjimo savybėms.

ETK-1 taip pat buvo naudojama kaip modelis ląstelių plastiškumui ir linijos diferenciacijai cholangiokarcinomoje tirti. Gydytas DNR metiltransferazės inhibitoriumi 5-azacitidinu sukėlė morfologinius ir fenotipinius pokyčius, dėl kurių susiformavo išvestinė ląstelių linija su hepatocitams būdingomis savybėmis, įskaitant AFP, albumino, integrino $\alpha 1$ ir trombopoetino ekspresiją, kartu su tam tikrų tulžies takų žymenų praradimu.

Ksenotransplantacijos modeliuose negydytos ETK-1 ląstelės suformuoja navikus, atitinkančius tubulinę adenokarcinomą, pasižyminčią duktaliniu fenotipu. Šie duomenys rodo, kad ETK-1 išlaiko diferenciacijos plastiškumą ir yra vertinga in vitro sistema, skirta tirti tulžies epitelio ląstelių transdiferenciaciją į hepatocitus, epigenetinę reguliaciją ir naviko heterogeniškumą intrahepatinėje cholangiokarcinomoje.

Organism Žmogus

Tissue Metastazių

Disease Cholangiokarcinoma

Metastatic site Ascitas

Synonyms ETK1

Charakteristikos

Age 61 metai

Gender Moteris

ETK-1 ląstelės | 305529

Ethnicity	Japonų
------------------	--------

Growth properties	Priglundęs
--------------------------	------------

Reguliavimo duomenys

Citation	ETK-1 (Cytion katalogo numeris 305529)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1206
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile	Mutacija: p.Arg175His, homozigotinė
---------------------------	-------------------------------------

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	„Accutase“, 5 min., 37 °C
-----------------------------	---------------------------

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

Seeding density	$1-3 \times 10^4$ ląstelių/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

ETK-1 ląstelės | 305529

Post-Thaw Recovery

Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė