

ETK-1 šūnas | 305529

Vispārīga informācija

Description

ETK-1 ir cilvēka intrahepatiskā holangiokarcinomas (IHCCA) šūnu līnija, kas sākotnēji izveidota no pieauguša pacienta, kuram bija sarkomatoīda holangiokarcinoma, ascīta šķidrums. Audzējs, no kura tika iegūta ETK-1, uzrādīja gan tubulāras adenokarcinomas, gan sarkomatoīdas sastāvdaļas, un šī šūnu līnija atspoguļo sarkomatoīdo fenotipu. ETK-1 šūnas aug adhezīvi kā vienvēidīgs epitēlija monoslānis ar bruņakmens izskatu, kas sastāv galvenokārt no mazām daudzstūra šūnām ar apaļiem vai ovāliem kodoliem un izteiktiem nukleoliem. Šūnu agrīnās pasāžas populācijas dubultošanās laiks bija aptuveni 70 stundas, un tām bija hiperdiploīds kariotips ar modālo hromosomu skaitu 70. gadu vidū, kas atbilst hromosomu nestabilitātei, kas raksturīga agresīvām žultsceļu ļaundabīgajām audzējām.

Imunofenotipiski ETK-1 šūnas ekspresē žultsceļu epitēlija marķierus, tostarp γ -glutamiltanspeptidāzi (GGT), citocheratīnu 18 (CK18) un citocheratīnu 19 (CK19), kas apstiprina to holangiocitāro izcelsmi. Bāzes apstākļos tām nav hepatocītu saistīto marķieru, piemēram, alfa-fetoproteīna (AFP) un albumīna. ETK-1 šūnas ekspresē vimentīnu, kas atspoguļo to sarkomatoīdas īpašības un daļēji mezenhimālo fenotipu, vienlaikus neekspresējot karcinoembrionālo antigēnu (CEA) un oghidrātu antigēnu 19-9 (CA19-9). Šis marķieru profils atbilst sarkomatoīdajai komponentei, kas novērota primārajā audzējā, un izceļ pazīmes, kas atbilst epitēlija-mezenhīmas pārejas līdzīgām īpašībām.

ETK-1 ir izmantota arī kā modelis, lai pētītu šūnu plastiskumu un ciltskoka diferenciāciju holangiokarcinomā. Ārstēšana ar DNS metiltransferāzes inhibitoru 5-azacitidīnu izraisīja morfoloģiskas un fenotipiskas izmaiņas, kā rezultātā tika iegūta atvasināta šūnu līnija ar hepatocītu līdzīgām pazīmēm, tostarp AFP, albumīna, integrīna $\alpha 1$ un trombopoetīna ekspresiju, kā arī noteiktu žultsceļu marķieru zudumu. Ksenotransplantātu modeļos neārstētas ETK-1 šūnas veido audzējus, kas atbilst tubulārajai adenokarcinomai ar duktaļu fenotipu. Šie rezultāti liecina, ka ETK-1 saglabā diferenciācijas plastiskumu un kalpo kā vērtīga in vitro sistēma, lai pētītu žultsceļu epitēlija transdiferencēšanos par hepatocītiem, epigenētisko regulāciju un audzēja heterogenitāti intrahepatiskajā holangiokarcinomā.

Organism Cilvēks

Tissue Metastātisks

Disease Holangiokarcinoma

Metastatic site Ascīts

Synonyms ETK1

Raksturojums

Age 61 gads

Gender Sievietes

ETK-1 šūnas | 305529

Ethnicity Japāņu**Growth properties** Adherent

Normatīvie dati

Citation ETK-1 (Cytion kataloga numurs 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: p.Arg175His, homozigota

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

ETK-1 šūnas | 305529

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

ETK-1 šūnas | 305529

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze