

ETK-1-cellen | 305529

Algemene informatie

Description

ETK-1 is een menselijke celijn van intrahepatisch cholangiocarcinoom (IHCCA), die oorspronkelijk is geïsoleerd uit de ascitesvloeistof van een volwassen patiënt met sarcomatoïd cholangiocarcinoom. De tumor waaruit ETK-1 is afgeleid, vertoont zowel tubulair adenocarcinoom als sarcomatoïde componenten, en de cellijn weerspiegelt het sarcomatoïde fenotype. ETK-1-cellen groeien adhesiëus als een uniforme epitheliale monolaag met een kasseienpatroon, voornamelijk bestaande uit kleine veelhoekige cellen met ronde tot ovale kernen en opvallende nucleoli. Cellen in vroege passages vertoonden een populatieverdubbelingstijd van ongeveer 70 uur en een hyperdiploïd karyotype met een modaal chromosoomaantal in het midden van de 70's, wat overeenkomt met de chromosomale instabiliteit die kenmerkend is voor agressieve maligniteiten van de galwegen.

Immunofenotypisch brengen ETK-1-cellen galweg-epitheliale markers tot expressie, waaronder γ -glutamyltranspeptidase (GGT), cytokeratine 18 (CK18) en cytokeratine 19 (CK19), wat hun cholangiocytische oorsprong bevestigt. Ze zijn onder basale omstandigheden negatief voor hepatocyten-geassocieerde markers zoals alfa-fetoproteïne (AFP) en albumine. ETK-1-cellen brengen vimentine tot expressie, wat hun sarcomatoïde kenmerken en gedeeltelijk mesenchymale fenotype weerspiegelt, terwijl ze geen expressie vertonen van carcino-embryonaal antigeen (CEA) en koolhydraatantigeen 19-9 (CA19-9). Dit markerprofiel komt overeen met de sarcomatoïde component die in de primaire tumor wordt waargenomen en benadrukt kenmerken die consistent zijn met eigenschappen die lijken op de epitheliaal-mesenchymale overgang.

ETK-1 is ook gebruikt als model voor het bestuderen van cellulaire plasticiteit en differentiatie van cellijnen bij cholangiocarcinoom. Behandeling met de DNA-methyltransferase-remmer 5-azacytidine leidde tot morfologische en fenotypische veranderingen, wat resulteerde in een afgeleide cellijn met hepatocytachtige kenmerken, waaronder expressie van AFP, albumine, integrine $\alpha 1$ en trombopoëetine, samen met het verlies van bepaalde galwegmarkers. In xenotransplantaatmodellen vormen onbehandelde ETK-1-cellen tumoren die overeenkomen met tubulair adenocarcinoom met een ductaal fenotype. Deze bevindingen tonen aan dat ETK-1 differentiatieplasticiteit behoudt en dient als een waardevol in-vitrosysteem voor het onderzoeken van de transdifferentiatie van galwegenepitheel naar hepatocyten, epigenetische regulatie en tumorheterogeniteit bij intrahepatisch cholangiocarcinoom.

Organism	Mens
Tissue	Uitgezaaid
Disease	Cholangiocarcinoom
Metastatic site	Ascites
Synonyms	ETK1

Kenmerken

Age	61 jaar
-----	---------

ETK-1-cellen | 305529

Gender Vrouw**Ethnicity** Japans**Growth properties** Aanhangend

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile Mutatie: p.Arg175His, homozygoot

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Seeding density** 1 tot 3×10^4 cellen/cm²

ETK-1-cellen | 305529

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 c^{ellen}/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse