

## ETK-1-celler | 305529

## Generell informasjon

## Description

ETK-1 er en human cellelinje fra intrahepatisk kolangiokarsinom (IHCCA), opprinnelig etablert fra ascitesvæske fra en voksen pasient med sarkomatoid kolangiokarsinom. Svulsten som ETK-1 stammer fra, viste både tubulært adenokarsinom og sarkomatoide komponenter, og cellelinjen gjenspeiler den sarkomatoide fenotypen. ETK-1-celler vokser ved vedheft som et ensartet epitelmonolag med et brosteinslignende utseende, hovedsakelig sammensatt av små polygonale celler med runde til ovale kjerner og fremtredende nukleoler. Celler i tidlige passasjer viste en populasjonsdoblingstid på omtrent 70 timer og en hyperdiploid karyotype med et modalt kromosomtall på midten av 70-tallet, noe som stemmer overens med kromosomisk ustabilitet som er typisk for aggressive ondartede svulster i galleveiene.

Immunofenotypisk uttrykker ETK-1-celler markører for galleveiepitel, inkludert  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGT), cytokeratin 18 (CK18) og cytokeratin 19 (CK19), noe som bekrefter deres kolangiokytiske opprinnelse. De er negative for hepatocytassosierte markører som alfa-fetoprotein (AFP) og albumin under basale forhold. ETK-1-celler uttrykker vimentin, noe som gjenspeiler deres sarkomatoide egenskaper og delvis mesenkymale fenotype, mens de mangler uttrykk for karcinoembryonalt antigen (CEA) og karbohydratantigen 19-9 (CA19-9). Denne markørprofilen samsvarer med den sarkomatoide komponenten som er observert i primærtumoren og fremhever trekk som er forenlige med egenskaper som ligner epitel-mesenkym-overgang.

ETK-1 har også blitt brukt som modell for å studere cellulær plastisitet og stamlinjedifferensiering ved kolangiokarsinom. Behandling med DNA-metyltransferasehemmeren 5-azacytidin induserte morfologiske og fenotypiske endringer, noe som resulterte i en avledet cellelinje med hepatocyttn lignende trekk, inkludert uttrykk for AFP, albumin, integrin  $\alpha 1$  og trombopoietin, sammen med tap av visse gallemarkører. I xenotransplantasjonsmodeller danner ubehandlede ETK-1-celler svulster som samsvarer med tubulært adenokarsinom med en duktal fenotype. Disse funnene viser at ETK-1 beholder differensieringsplastisitet og fungerer som et verdifullt in vitro-system for å undersøke transdifferensiering fra galdeepitel til hepatocytter, epigenetisk regulering og tumorheterogenitet ved intrahepatisk kolangiokarsinom.

**Organism** Menneskelig**Tissue** Metastatisk**Disease** Kolangiokarsinom**Metastatic site** Ascites**Synonyms** ETK1

## Kjennetegn

**Age** 61 år**Gender** Kvinne

## ETK-1-celler | 305529

**Ethnicity** Japansk**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

**Citation** ETK-1 (Cytion-katalognummer 305529)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1206

## Biomolekylære data

**Mutational profile** Mutasjon: p.Arg175His, homozygot

## Håndtering

**Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Seeding density** 1 til  $3 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

## ETK-1-celler | 305529

### Post-Thaw Recovery

Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

### Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, befuktet atmosfære.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll og molekylær analyse