

**Komórki ETK-1 | 305529****Informacje ogólne****Description**

ETK-1 to ludzka linia komórkowa raka dróg żółciowych wewnątrzwątrobowych (IHCCA), pierwotnie wyhodowana z płynu puchlinowego dorosłego pacjenta z rakiem dróg żółciowych o charakterze sarkomatoidalnym. Nowotwór, z którego pochodzi ETK-1, wykazywał zarówno elementy gruczolakomórkowego raka przewodowego, jak i elementy sarkomatoidalne, a linia komórkowa odzwierciedla fenotyp sarkomatoidalny. Komórki ETK-1 rosną w sposób adhezyjny, tworząc jednolitą monowarstwę nabłonkową o wyglądzie brukowym, złożoną głównie z małych komórek wielokątnych o jądrach okrągłych lub owalnych i wyraźnych jądrach komórkowych. Komórki we wczesnych pasażach wykazywały czas podwojenia populacji wynoszący około 70 godzin oraz kariotyp hiperdiploidalny z modalną liczbą chromosomów w przedziale około 75, co jest zgodne z niestabilnością chromosomową typową dla agresywnych nowotworów złośliwych dróg żółciowych.

Pod względem immunofenotypowym komórki ETK-1 wykazują ekspresję markerów nabłonka dróg żółciowych, w tym  $\gamma$ -glutamylotranspeptydazy (GGT), cytokeratyny 18 (CK18) i cytokeratyny 19 (CK19), co potwierdza ich pochodzenie z komórek cholangioocytów. W warunkach podstawowych wykazują one ujemny wynik w przypadku markerów związanych z hepatocytami, takich jak alfa-fetoproteina (AFP) i albumina. Komórki ETK-1 wykazują ekspresję wimentyny, co odzwierciedla ich cechy sarkomatoidalne i częściowy fenotyp mezenchymalny, przy czym nie wykazują ekspresji antygenu rakowo-płodowego (CEA) ani antygenu węglowodanowego 19-9 (CA19-9). Ten profil markerów odpowiada składnikowi sarkomatoidowemu obserwowanemu w guzie pierwotnym i podkreśla cechy zgodne z właściwościami podobnymi do przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego.

Linia ETK-1 została również wykorzystana jako model do badania plastyczności komórkowej i różnicowania linii komórkowej w raku dróg żółciowych. Leczenie inhibitorem metylotransferazy DNA, 5-azacytydyną, wywołało zmiany morfologiczne i fenotypowe, skutkujące powstaniem pochodnej linii komórkowej o cechach podobnych do hepatocytów, w tym ekspresją AFP, albuminy, integryny  $\alpha 1$  i trombopoetyny, wraz z utratą niektórych markerów dróg żółciowych. W modelach ksenotransplantacyjnych nieleczone komórki ETK-1 tworzą guzy odpowiadające gruczolakorakowi cewkowatemu o fenotypie przewodowym. Wyniki te wskazują, że linia ETK-1 zachowuje plastyczność różnicowania i stanowi cenny system in vitro do badania transdiferencjacji nabłonka dróg żółciowych w kierunku hepatocytów, regulacji epigenetycznej oraz heterogenności nowotworu w raku dróg żółciowych wewnątrzwątrobowych.

**Organism**

Człowiek

**Tissue**

Przerzuty

**Disease**

Rak dróg żółciowych

**Metastatic site**

Wodobrzusze

**Synonyms**

ETK1

**Charakterystyka**

## Komórki ETK-1 | 305529

**Age** 61 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Japoński**Growth properties** Adherent

## Dane regulacyjne

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

## Dane biomolekularne

**Mutational profile** Mutacja: p.Arg175His, homozygotyczna

## Obsługa

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37°C

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Komórki ETK-1 | 305529**

**Seeding density** od 1 do  $3 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, nawilżona atmosfera.

**Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki ETK-1 | 305529

---

### **Storage Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## **Kontrola jakości i analiza molekularna**