

ETK-1-celler | 305529

Allmän information

Description

ETK-1 är en cellinje från humant intrahepatiskt kolangiokarcinom (IHCCA) som ursprungligen etablerades från ascitesvätska hos en vuxen patient med sarkomatoid kolangiokarcinom. Tumören från vilken ETK-1 härstammar uppvisade både tubulärt adenokarcinom och sarkomatoida komponenter, och cellinjen återspeglar den sarkomatoida fenotypen. ETK-1-celler växer adherent som ett enhetligt epitelmonolager med ett kullerstensliknande utseende, bestående huvudsakligen av små polygonala celler med runda till ovala kärnor och framträdande nukleoler. Celler i tidiga passager uppvisade en fördubblingstid på cirka 70 timmar och en hyperdiploid karyotyp med ett modalt kromosomantal i mitten av 70-talet, vilket överensstämmer med den kromosomala instabilitet som är typisk för aggressiva maligniteter i gallvägarna.

Immunofenotypiskt uttrycker ETK-1-celler markörer för gallvägsepitel, däribland γ -glutamyltranspeptidas (GGT), cytokeratin 18 (CK18) och cytokeratin 19 (CK19), vilket bekräftar deras kolangioocytiska ursprung. De är negativa för hepatocytassocierade markörer såsom alfa-fetoprotein (AFP) och albumin under basala förhållanden. ETK-1-celler uttrycker vimentin, vilket återspeglar deras sarkomatoida egenskaper och partiella mesenkymala fenotyp, samtidigt som de saknar uttryck av karcinoembryonalt antigen (CEA) och kolhydratantigen 19-9 (CA19-9). Denna markörprofil motsvarar den sarkomatoida komponenten som observerats i primärtumören och belyser egenskaper som överensstämmer med egenskaper liknande epitel-mesenkymövergång.

ETK-1 har också använts som modell för att studera cellulär plasticitet och linjedifferentiering vid kolangiokarcinom. Behandling med DNA-metyltransferasinhibitorn 5-azacytidin inducerade morfologiska och fenotypiska förändringar, vilket resulterade i en derivatcellinje med hepatocytliknande egenskaper, inklusive uttryck av AFP, albumin, integrin $\alpha 1$ och trombopoietin, tillsammans med förlust av vissa gallvägsmarkörer. I xenotransplantatmodeller bildar obehandlade ETK-1-celler tumörer som överensstämmer med tubulärt adenokarcinom med en duktal fenotyp. Dessa fynd visar att ETK-1 behåller sin differentieringsplasticitet och fungerar som ett värdefullt in vitro-system för att undersöka transdifferentiering från gallvägsepitel till hepatocyter, epigenetisk reglering och tumörheterogenitet vid intrahepatiskt kolangiokarcinom.

Organism

Människan

Tissue

Metastaserande

Disease

Kolangiokarcinom

Metastatic site

Ascites

Synonyms

ETK1

Egenskaper

Age

61 år

Gender

Kvinna

ETK-1-celler | 305529

Ethnicity Japanska**Growth properties** Följsam

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

Mutational profile Mutation: p.Arg175His, homozygot

Hantering

Culture Medium RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Seeding density 1 till 3×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

ETK-1-celler | 305529

Post-Thaw Recovery

Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 200 x g i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium.
7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys