

Bunky ETK-1 | 305529**Všeobecné informácie****Description**

ETK-1 je ľudská bunková línia intrahepatálneho cholangiokarcinómu (IHCCA), pôvodne izolovaná z ascitovej tekutiny dospelého pacienta so sarkomatoidným cholangiokarcinómom. Nádor, z ktorého bola ETK-1 odvodená, vykazoval ako tubulárny adenokarcinóm, tak aj sarkomatoidné zložky, pričom táto bunková línia odráža sarkomatoidný fenotyp. Bunky ETK-1 rastú adhezívne ako jednotná epiteliálna monovrstva s dlažbovitým vzhľadom, zložená hlavne z malých polygonálnych buniek s okrúhlymi až oválnymi jadrami a výraznými jadierkami. Bunky v raných pasážach vykazovali čas zdvojnásobenia populácie približne 70 hodín a hyperdiploidný karyotyp s modálnym počtom chromozómov v strede 70. rokov, čo zodpovedá chromozómovej nestabilite typickej pre agresívne malígne nádory žlčových ciest.

Z imunofenotypického hľadiska bunky ETK-1 exprimujú markery žlčového epitelu, vrátane γ -glutamyltranspeptidázy (GGT), cytokeratínu 18 (CK18) a cytokeratínu 19 (CK19), čo potvrdzuje ich cholangioocytový pôvod. V bazálnych podmienkach sú negatívne na markery asociované s hepatocytmi, ako sú alfa-fetoproteín (AFP) a albumín. Bunky ETK-1 exprimujú vimentín, čo odráža ich sarkomatoidné charakteristiky a čiastočný mezenchýmový fenotyp, pričom neexprimujú karcinoembryonálny antigén (CEA) a sacharidový antigén 19-9 (CA19-9). Tento profil markerov zodpovedá sarkomatoidnej zložke pozorovanej v primárnom nádore a zdôrazňuje znaky zodpovedajúce vlastnostiam podobným epiteliálno-mezenchýmovej transformácii.

ETK-1 sa tiež používa ako model na štúdium bunkovej plasticity a diferenciácie línií pri cholangiokarcinóme. Liečba inhibítorom DNA-metyltransferázy 5-azacytidínom vyvolala morfológické a fenotypové zmeny, čo viedlo k derivovanej bunkovej línii s vlastnosťami podobnými hepatocytom, vrátane expresie AFP, albumínu, integrínu $\alpha 1$ a trombopoetínu, spolu so stratou určitých žlčových markerov. V modeloch s xenotransplantátmi tvoria neliečené bunky ETK-1 nádory zodpovedajúce tubulárnemu adenokarcinómu vykazujúcemu duktálny fenotyp. Tieto zistenia dokazujú, že ETK-1 si zachováva diferenciáciu a slúži ako cenný in vitro systém na skúmanie transdiferenciácie žlčového epitelu na hepatocyty, epigenetickej regulácie a nádorovej heterogenity pri intrahepatálnom cholangiokarcinóme.

Organism Ľudské**Tissue** Metastatické**Disease** Cholangiokarcinóm**Metastatic site** Ascites**Synonyms** ETK1**Charakteristika****Age** 61 rokov**Gender** Ženy

Bunky ETK-1 | 305529**Ethnicity** Japonský**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** ETK-1 (katalógové číslo Cytion 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: p.Arg175His, homozygotná**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1 až 3×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

Bunky ETK-1 | 305529

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste bunky v koncentracii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletne rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza