

Celice ETK-1 | 305529

Splošne informacije

Description

ETK-1 je človeška celična linija intrahepatičnega holangiokarcinoma (IHCCA), ki je bila prvotno vzpostavljena iz ascitične tekočine odraslega bolnika s sarkomatoidnim holangiokarcinomom. Tumor, iz katerega je bila pridobljena linija ETK-1, je vseboval tako tubularni adenokarcinom kot sarkomatoidne komponente, celična linija pa odraža sarkomatoidni fenotip. Celice ETK-1 rastejo adhezivno kot enotna epiteljska monosloj z videzom tlakovcev, sestavljena predvsem iz majhnih poligonalnih celic z okroglimi do ovalnimi jedri in izrazitimi nukleoli. Celice v zgodnjih pasážah so pokazale čas podvojitve populacije približno 70 ur ter hiperdiploidni kariotip z modalnim številom kromosomov v sredini 70-ih, kar je skladno s kromosomsko nestabilnostjo, značilno za agresivne maligne obolenja žolčnih poti.

Imunofenotipsko celice ETK-1 izražajo markerje žolčnega epitelija, vključno z γ -glutamil transpeptidazo (GGT), citocheratinom 18 (CK18) in citocheratinom 19 (CK19), kar potrjuje njihov holangiocitni izvor. V bazalnih pogojih so negativne za markerje, povezane s hepatociti, kot sta alfa-fetoprotein (AFP) in albumin. Celice ETK-1 izražajo vimentin, kar odraža njihove sarkomatoidne značilnosti in delni mezenhimalni fenotip, medtem ko ne izražajo karcinoembrionalnega antigena (CEA) in ogljikovodnega antigena 19-9 (CA19-9). Ta profil markerjev ustreza sarkomatoidni komponenti, opazovani v primarnem tumorju, in poudarja značilnosti, skladne z lastnostmi, podobnimi epitelno-mezenhimalni tranziciji.

ETK-1 se je uporabljal tudi kot model za preučevanje celične plastičnosti in diferenciacije linije pri holangiokarcinomu. Zdravljenje z zaviralcem metiltransferaze DNA 5-azacitidinom je povzročilo morfološke in fenotipne spremembe, kar je privedlo do izpeljane celične linije z značilnostmi, podobnimi hepatocitom, vključno z izražanjem AFP, albumina, integrina $\alpha 1$ in trombopoietina, skupaj z izgubo nekaterih žolčnih markerjev. V modelih ksenotransplantatov nezdravljene celice ETK-1 tvorijo tumorje, ki ustrezajo tubularnemu adenokarcinomu z duktalnim fenotipom. Ti izsledki kažejo, da ETK-1 ohranja plastičnost diferenciacije in služi kot dragocen in vitro sistem za preučevanje transdiferenciacije iz žolčnega epitelija v hepatocite, epigenetske regulacije in heterogenosti tumorja pri intrahepatičnem holangiokarcinomu.

Organism Človek**Tissue** Metastatski**Disease** Holangiokarcinom**Metastatic site** Ascites**Synonyms** ETK1

Značilnosti

Age 61 let**Gender** Ženske

Celice ETK-1 | 305529

Ethnicity Japonski**Growth properties** Pripadajoče

Regulativni podatki

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

Biomolekularni podatki

Mutational profile Mutacija: p.Arg175His, homozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1 do 3×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

Celice ETK-1 | 305529

Post-Thaw Recovery

Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti $5 \times 10^4 \text{ cel}^{\text{ic}}/\text{cm}^2$ in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium

Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza