

ETK-1 Hücreleri | 305529

Genel bilgi

Description

ETK-1, sarkomatoid kolanjiyokarsinomlu bir yetişkin hastanın asit sıvısından elde edilen bir insan intrahepatik kolanjiyokarsinom (IHCCA) hücre hattıdır. ETK-1'in türetildiği tümörde hem tübüler adenokarsinom hem de sarkomatoid bileşenler mevcuttu ve hücre hattı sarkomatoid fenotipi yansıtmaktadır. ETK-1 hücreleri, yuvarlak ila oval çekirdekli ve belirgin nükleollere sahip küçük poligonal hücrelerden oluşan, parke taşı görünümlü, tek tip bir epitel tek tabakası halinde yapışık olarak büyür. Erken pasaj hücreleri, agresif safra yolu malignitelerine özgü kromozomal instabilite ile tutarlı olarak, yaklaşık 70 saatlik bir popülasyon ikiye katlanma süresi ve modal kromozom sayısı 70'lerin ortalarında olan bir hiperdiploid karyotip sergilemiştir.

İmmünojenotipik olarak, ETK-1 hücreleri, γ -glutamil transpeptidaz (GGT), sitokeratin 18 (CK18) ve sitokeratin 19 (CK19) dahil olmak üzere safra yolu epitel belirteçlerini eksprese eder ve bu da kolanjiyositik kökenlerini doğrular. Bu hücreler, bazal koşullar altında alfa-fetoprotein (AFP) ve albümin gibi hepatosit ile ilişkili belirteçler açısından negatiftir. ETK-1 hücreleri, sarkomatoid özelliklerini ve kısmi mezenkimal fenotipini yansıtan vimentin eksprese ederken, karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbonhidrat antijeni 19-9 (CA19-9) ekspresyonundan yoksundur. Bu belirteç profili, primer tümörde gözlenen sarkomatoid bileşene karşılık gelir ve epitelyal-mezenkimal geçiş benzeri özelliklerle tutarlı özellikleri vurgular.

ETK-1 ayrıca kolanjiyokarsinomda hücreler plastisite ve soy farklılaşmasını incelemek için bir model olarak kullanılmıştır. DNA metiltransferaz inhibitörü 5-azasitidin ile tedavi, morfolojik ve fenotipik değişikliklere yol açarak, belirli safra markörlerinin kaybıyla birlikte AFP, albümin, integrin $\alpha 1$ ve trombopoietin ekspresyonu dahil olmak üzere hepatosit benzeri özelliklere sahip bir türev hücre hattının oluşmasına neden olmuştur. Ksenograft modellerinde, tedavi edilmemiş ETK-1 hücreleri, duktal fenotip sergileyen tübüler adenokarsinom ile uyumlu tümörler oluşturur. Bu bulgular, ETK-1'in farklılaşma esnekliğini koruduğunu ve intrahepatik kolanjiyokarsinomda biliyer epitel-hepatositik transdiferansiyasyon, epigenetik düzenleme ve tümör heterojenitesini araştırmak için değerli bir in vitro sistem işlevi gördüğünü göstermektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Metastatik

Disease

Kolanjiyokarsinom

Metastatic site

Asit

Synonyms

ETK1

Özellikler

Age

61 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Japonca

ETK-1 Hücreleri | 305529

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

ETK-1 (Cytion katalog numarası 305529)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1206

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile

Mutasyon: p.Arg175His, homozigot

Elleçleme

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)

Supplements

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent

Accutase, 5 dakika, 37°C

Subculturing

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density

1 ila 3×10^4 hücre/cm²

Fluid renewal

haftada 2 ila 3 kez

Post-Thaw Recovery

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

ETK-1 Hücreleri | 305529

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz