

Клітини ЕТК-1 | 305529

Загальна інформація

Description

ЕТК-1 — це клітинна лінія внутрішньопечінкової холангіокарциноми людини (IHCCA), спочатку виділена з асцитичної рідини дорослого пацієнта із саркоматоїдною холангіокарциномою. Пухлина, з якої було отримано ЕТК-1, містила як компоненти трубчастої аденокарциноми, так і саркоматоїдні компоненти, і клітинна лінія відображає саркоматоїдний фенотип. Клітини ЕТК-1 ростуть адгезивно у вигляді однорідного епітеліального моношару з «бруківкоподібним» виглядом, що складається переважно з дрібних багатокутних клітин з круглими або овальними ядрами та виразними ядерцями. Клітини ранніх пасажів демонстрували час подвоєння популяції приблизно 70 годин та гіпердиплоїдний каріотип з модальною кількістю хромосом у середині 70-х, що відповідає хромосомній нестабільності, типовій для агресивних злоякісних новоутворень жовчних шляхів.

З імунофенотипічної точки зору клітини ЕТК-1 експресують маркери епітелію жовчних проток, зокрема γ -глутамілтранспептидазу (GGT), цитокератин 18 (СК18) та цитокератин 19 (СК19), що підтверджує їх холангіоцитарне походження. У базових умовах вони не експресують маркерів, пов'язаних з гепатоцитами, таких як альфа-фетопротейн (АФП) та альбумін. Клітини ЕТК-1 експресують віментин, що свідчить про їхні саркоматоїдні характеристики та частково мезенхімальний фенотип, при цьому у них відсутня експресія карциномембронального антигену (СЕА) та вуглеводного антигену 19-9 (CA19-9). Цей профіль маркерів відповідає саркоматоїдному компоненту, що спостерігається в первинній пухлині, та підкреслює ознаки, що відповідають властивостям, подібним до епітеліально-мезенхімального переходу.

ЕТК-1 також використовували як модель для вивчення клітинної пластичності та диференціації ліній у холангіокарциномі. Лікування інгібітором ДНК-метилтрансферази 5-азацитидином індукувало морфологічні та фенотипні зміни, що призвело до утворення похідної клітинної лінії з гепатоцитоподібними ознаками, включаючи експресію АФП, альбуміну, інтегрину $\alpha 1$ та тромбопоєтину, а також втрату певних жовчних маркерів. У моделях ксенотрансплантатів неліковані клітини ЕТК-1 утворюють пухлини, що відповідають тубулярній аденокарциномі з протоковим фенотипом. Ці результати свідчать про те, що ЕТК-1 зберігає пластичність диференціації та слугує цінною системою *in vitro* для дослідження трансдиференціації епітелію жовчних проток у гепатоцити, епігенетичної регуляції та гетерогенності пухлин при внутрішньопечінковій холангіокарциномі.

Organism	Людина
Tissue	Метастатичний
Disease	Холангіокарцинома
Metastatic site	Асцит
Synonyms	ЕТК1

Характеристики

Age	61 рік
------------	--------

Клітини ЕТК-1 | 305529

Gender Жінка**Ethnicity** Японський**Growth properties** Адепт

Нормативні дані

Citation ЕТК-1 (номер у каталозі Cytion 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206

Біомолекулярні дані

Mutational profile Мутація: p.Arg175His, гомозиготна

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 хв., 37 °C**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density** від 1 до 3×10^4 клітин/см²

Клітини ЕТК-1 | 305529

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Центрифугуйте суміш при $200 \times g$ протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.
7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини ЕТК-1 | 305529

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °С. Зберігання при -80 °С допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз