ETK-1

305529

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

ETK-1 to ludzka linia komórkowa raka dróg żółciowych wewnątrzwątrobowych (IHCCA), pierwotnie wyhodowana z płynu puchlinowego dorosłego pacjenta z rakiem dróg żółciowych o charakterze sarkomatoidalnym. Nowotwór, z którego pochodzi ETK-1, wykazywał zarówno elementy gruczołakokomórkowego raka przewodowego, jak i elementy sarkomatoidalne, a linia komórkowa odzwierciedla fenotyp sarkomatoidalny. Komórki ETK-1 rosną w sposób adhezyjny, tworząc jednolitą monowarstwę nabłonkową o wyglądzie brukowym, złożoną głównie z małych komórek wielokątnych o jądrach okrągłych lub owalnych i wyraźnych jądrach komórkowych. Komórki we wczesnych pasażach wykazywały czas podwojenia populacji wynoszący około 70 godzin oraz kariotyp hiperdiploidalny z modalną liczbą chromosomów w przedziale około 75, co jest zgodne z niestabilnością chromosomową typową dla agresywnych nowotworów złośliwych dróg żółciowych. Pod względem immunofenotypowym komórki ETK-1 wykazują ekspresję markerów nabłonka dróg żółciowych, w tym γ-glutamylotranspeptydazy (GGT), cytokeratyny 18 (CK18) i cytokeratyny 19 (CK19), co potwierdza ich pochodzenie z komórek cholangioocytów. W warunkach podstawowych wykazują one ujemny wynik w przypadku markerów związanych z hepatocytami, takich jak alfa-fetoproteina (AFP) i albumina. Komórki ETK-1 wykazują ekspresję wimentyny, co odzwierciedla ich cechy sarkomatoidalne i częściowy fenotyp mezenchymalny, przy czym nie wykazują ekspresji antygenu rakowo-płodowego (CEA) ani antygenu węglowodanowego 19-9 (CA19-9). Ten profil markerów odpowiada składnikowi sarkomatoidowemu obserwowanemu w guzie pierwotnym i podkreśla cechy zgodne z właściwościami podobnymi do przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego.
Linia ETK-1 została również wykorzystana jako model do badania plastyczności komórkowej i różnicowania linii komórkowej w raku dróg żółciowych. Leczenie inhibitorem metylotransferazy DNA, 5-azacytydyną, wywołało zmiany morfologiczne i fenotypowe, skutkujące powstaniem pochodnej linii komórkowej o cechach podobnych do hepatocytów, w tym ekspresją AFP, albuminy, integryny α1 i trombopoetyny, wraz z utratą niektórych markerów dróg żółciowych. W modelach ksenotransplantacyjnych nieleczone komórki ETK-1 tworzą guzy odpowiadające gruczolakorakowi cewkowatemu o fenotypie przewodowym. Wyniki te wskazują, że linia ETK-1 zachowuje plastyczność różnicowania i stanowi cenny system in vitro do badania transdyferencjacji nabłonka dróg żółciowych w kierunku hepatocytów, regulacji epigenetycznej oraz heterogenności nowotworu w raku dróg żółciowych wewnątrzwątrobowych.

Chusteczka	Przerzuty
Choroba	Rak dróg żółciowych
Miejsce przerzutów	Wodobrzusze

Synonimy

- ETK1

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

ETK-1 (numer katalogowy Cytion 305529)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_1206

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Mutacja: p.Arg175His, homozygotyczna

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase, 5 min., 37°C

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	od 1 do 3 × 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu
Powrót do stanu sprzed rozmrożenia	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Rozmrażanie i hodowla

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	61 lat
Pochodzenie etniczne	Japoński

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes