

Cellules ETK-1 | 305529

Informations générales

Description

ETK-1 est une lignée cellulaire issue d'un cholangiocarcinome intrahépatique humain (IHCCA), initialement établie à partir du liquide ascitique d'un patient adulte atteint d'un cholangiocarcinome sarcomatoïde. La tumeur à l'origine de la lignée ETK-1 présentait à la fois des composantes d'adénocarcinome tubulaire et des composantes sarcomatoïdes, et la lignée cellulaire reflète le phénotype sarcomatoïde. Les cellules ETK-1 se développent par adhérence sous la forme d'une monocouche épithéliale uniforme présentant un aspect pavé, composée principalement de petites cellules polygonales dotées de noyaux ronds à ovales et de nucléoles proéminents. Les cellules aux premiers passages présentaient un temps de doublement de la population d'environ 70 heures et un caryotype hyperdiploïde avec un nombre modal de chromosomes se situant autour de 75, ce qui correspond à l'instabilité chromosomique typique des tumeurs malignes agressives des voies biliaires.

Sur le plan immunophénotypique, les cellules ETK-1 expriment des marqueurs épithéliaux biliaires, notamment la γ -glutamyltranspeptidase (GGT), la cytokératine 18 (CK18) et la cytokératine 19 (CK19), ce qui confirme leur origine cholangiocytaire. Elles sont négatives pour les marqueurs associés aux hépatocytes, tels que l'alpha-fœtoprotéine (AFP) et l'albumine, dans des conditions basales. Les cellules ETK-1 expriment la vimentine, ce qui reflète leurs caractéristiques sarcomatoïdes et leur phénotype mésenchymateux partiel, tout en ne présentant pas d'expression de l'antigène carcino-embryonnaire (CEA) ni de l'antigène glucidique 19-9 (CA19-9). Ce profil de marqueurs correspond à la composante sarcomatoïde observée dans la tumeur primaire et met en évidence des caractéristiques compatibles avec des propriétés de type transition épithélio-mésenchymateuse.

La lignée ETK-1 a également été utilisée comme modèle pour étudier la plasticité cellulaire et la différenciation des lignées dans le cholangiocarcinome. Le traitement par la 5-azacytidine, un inhibiteur de la méthyltransférase d'ADN, a induit des changements morphologiques et phénotypiques, aboutissant à une lignée cellulaire dérivée présentant des caractéristiques de type hépatocytaire, notamment l'expression de l'AFP, de l'albumine, de l'intégrine $\alpha 1$ et de la thrombopoïétine, ainsi que la perte de certains marqueurs biliaires. Dans des modèles de xénogreffes, les cellules ETK-1 non traitées forment des tumeurs compatibles avec un adénocarcinome tubulaire présentant un phénotype canalaire. Ces résultats démontrent que la lignée ETK-1 conserve une plasticité différencielle et constitue un système in vitro précieux pour étudier la transdifférenciation épithéliale biliaire en hépatocytaire, la régulation épigénétique et l'hétérogénéité tumorale dans le cholangiocarcinome intrahépatique.

Organism	Humain
Tissue	Métastatique
Disease	Cholangiocarcinome
Metastatic site	Ascite
Synonyms	ETK1

Caractéristiques

Age	61 ans
-----	--------

Cellules ETK-1 | 305529

Gender Femme**Ethnicity** Japonais**Growth properties** Adhérent

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Mutational profile Mutation : p.Arg175His, homozygote

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min, 37 °C

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density 1 à 3 × 10⁴ cellules/cm²

Cellules ETK-1 | 305529

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules ETK-1 | 305529

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire