

Cellule ETK-1 | 305529

Informazioni generali

Description

ETK-1 è una linea cellulare di colangiocarcinoma intraepatico umano (IHCCA) originariamente isolata dal liquido ascitico di un paziente adulto affetto da colangiocarcinoma sarcomatoide. Il tumore da cui è stata derivata la linea ETK-1 presentava sia componenti di adenocarcinoma tubulare che sarcomatoidi, e la linea cellulare riflette il fenotipo sarcomatoide. Le cellule ETK-1 crescono in modo aderente come un monostrato epiteliale uniforme dall'aspetto a ciottoli, composto principalmente da piccole cellule poligonali con nuclei da rotondi a ovali e nucleoli prominenti. Le cellule nei primi passaggi hanno mostrato un tempo di raddoppio della popolazione di circa 70 ore e un cariotipo iperdiploide con un numero modale di cromosomi intorno alla metà dei 70, coerente con l'instabilità cromosomica tipica delle neoplasie aggressive delle vie biliari.

Dal punto di vista immunofenotipico, le cellule ETK-1 esprimono marcatori epiteliali biliari tra cui la γ -glutamil transpeptidasi (GGT), la citocheratina 18 (CK18) e la citocheratina 19 (CK19), a conferma della loro origine colangiocitica. In condizioni basali, risultano negative per i marcatori associati agli epatociti, quali l'alfa-fetoproteina (AFP) e l'albumina. Le cellule ETK-1 esprimono la vimentina, il che riflette le loro caratteristiche sarcomatoidi e il fenotipo parzialmente mesenchimale, mentre non esprimono l'antigene carcinoembrionale (CEA) e l'antigene carboidrato 19-9 (CA19-9). Questo profilo marcatoriale corrisponde alla componente sarcomatoide osservata nel tumore primario ed evidenzia caratteristiche compatibili con proprietà simili alla transizione epiteliale-mesenchimale.

L'ETK-1 è stata inoltre utilizzata come modello per studiare la plasticità cellulare e la differenziazione del lignaggio nel colangiocarcinoma. Il trattamento con l'inibitore della metiltransferasi del DNA 5-azacitidina ha indotto cambiamenti morfologici e fenotipici, dando origine a una linea cellulare derivata con caratteristiche simili a quelle degli epatociti, tra cui l'espressione di AFP, albumina, integrina $\alpha 1$ e trombopoietina, insieme alla perdita di alcuni marcatori biliari. Nei modelli di xenotrapianto, le cellule ETK-1 non trattate formano tumori compatibili con l'adenocarcinoma tubulare che presentano un fenotipo duttale. Questi risultati dimostrano che la linea cellulare ETK-1 conserva la plasticità differenziale e costituisce un prezioso sistema in vitro per lo studio della transdifferenziazione dall'epitelio biliare a quello epatocitario, della regolazione epigenetica e dell'eterogeneità tumorale nel colangiocarcinoma intraepatico.

Organism	Umano
----------	-------

Tissue	Metastatico
--------	-------------

Disease	Colangiocarcinoma
---------	-------------------

Metastatic site	Ascite
-----------------	--------

Synonyms	ETK1
----------	------

Caratteristiche

Age	61 anni
-----	---------

Gender	Donna
--------	-------

Cellule ETK-1 | 305529

Ethnicity Giapponese**Growth properties** Aderente

Dati normativi

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

Dati biomolecolari

Mutational profile Mutazione: p.Arg175His, omozigote

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Seeding density da 1 a 3×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

Cellule ETK-1 | 305529

Post-Thaw Recovery

Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelamento.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelamento

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Cellule ETK-1 | 305529

Controllo qualità e analisi molecolare