

Células ETK-1 | 305529**Informações gerais****Description**

A ETK-1 é uma linha celular de colangiocarcinoma intra-hepático humano (IHCCA), originalmente isolada a partir do líquido ascítico de um doente adulto com colangiocarcinoma sarcomatóide. O tumor do qual a ETK-1 foi derivada apresentava componentes tanto de adenocarcinoma tubular como sarcomatóides, e a linha celular reflete o fenótipo sarcomatóide. As células ETK-1 crescem de forma aderente como uma monocamada epitelial uniforme com aspeto de paralelepípedo, composta principalmente por pequenas células poligonais com núcleos redondos a ovais e nucléolos proeminentes. As células em passagens iniciais apresentaram um tempo de duplicação da população de aproximadamente 70 horas e um cariótipo hiperdiploide com um número modal de cromossomas na casa dos 70, consistente com a instabilidade cromossómica típica de neoplasias malignas agressivas do trato biliar.

Do ponto de vista imunofenotípico, as células ETK-1 expressam marcadores epiteliais biliares, incluindo γ -glutamil transpeptidase (GGT), citoqueratina 18 (CK18) e citoqueratina 19 (CK19), confirmando a sua origem colangiocítica. São negativas para marcadores associados aos hepatócitos, tais como a alfa-fetoproteína (AFP) e a albumina, em condições basais. As células ETK-1 expressam vimentina, refletindo as suas características sarcomatoides e o seu fenótipo mesenquimal parcial, ao mesmo tempo que não apresentam expressão do antígeno carcinoembrionário (CEA) nem do antígeno de hidrato de carbono 19-9 (CA19-9). Este perfil de marcadores corresponde à componente sarcomatoide observada no tumor primário e destaca características consistentes com propriedades semelhantes à transição epitelial-mesenquimal.

A ETK-1 também tem sido utilizada como modelo para estudar a plasticidade celular e a diferenciação de linhagens no colangiocarcinoma. O tratamento com o inibidor da metiltransferase de ADN, a 5-azacitidina, induziu alterações morfológicas e fenotípicas, resultando numa linha celular derivada com características semelhantes às dos hepatócitos, incluindo a expressão de AFP, albumina, integrina $\alpha 1$ e trombopoietina, juntamente com a perda de certos marcadores biliares. Em modelos de xenoenxertos, as células ETK-1 não tratadas formam tumores compatíveis com o adenocarcinoma tubular, apresentando um fenótipo ductal. Estes resultados demonstram que a ETK-1 mantém a plasticidade de diferenciação e constitui um valioso sistema in vitro para investigar a transdiferenciação epitelial biliar para hepatocítica, a regulação epigenética e a heterogeneidade tumoral no colangiocarcinoma intra-hepático.

Organism

Humano

Tissue

Metastático

Disease

Colangiocarcinoma

Metastatic site

Ascite

Synonyms

ETK1

Caraterísticas**Age**

61 anos

Células ETK-1 | 305529**Gender** Feminino**Ethnicity** Japonês**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** ETK-1 (número de catálogo da Cytion 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutação: p.Arg175His, homozigótica**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1 a 3×10^4 células/cm²

Células ETK-1 | 305529

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 200 x g durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células ETK-1 | 305529

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular