

Celulele ETK-1 | 305529

Informații generale

Description

ETK-1 este o linie celulară de colangiocarcinom intrahepatic uman (IHCCA), obținută inițial din lichidul ascitic al unui pacient adult cu colangiocarcinom sarcomatoid. Tumora din care a fost derivată ETK-1 prezenta atât componente de adenocarcinom tubular, cât și componente sarcomatoide, iar linia celulară reflectă fenotipul sarcomatoid. Celulele ETK-1 cresc aderent sub forma unui monostrat epitelial uniform, cu aspect de pavaj, compus în principal din celule poligonale mici, cu nucleee rotunde până la ovale și nucleoli proeminenți. Celulele din pasajele timpurii au prezentat un timp de dublare a populației de aproximativ 70 de ore și un cariotip hiperdiploid, cu un număr modal de cromozomi situat la mijlocul intervalului 70, în concordanță cu instabilitatea cromozomială tipică neoplaziilor agresive ale tractului biliar.

Din punct de vedere imunofenotipic, celulele ETK-1 exprimă markeri epiteliali biliari, inclusiv γ -glutamil transpeptidaza (GGT), citocheratina 18 (CK18) și citocheratina 19 (CK19), confirmând originea lor colangiocitară. Acestea sunt negative pentru markerii asociați hepatocitelor, precum alfa-fetoproteina (AFP) și albumina, în condiții bazale. Celulele ETK-1 exprimă vimentina, ceea ce reflectă caracteristicile lor sarcomatoide și fenotipul mezenchimal parțial, în timp ce nu exprimă antigenul carcinoembrionar (CEA) și antigenul carbohidric 19-9 (CA19-9). Acest profil de markeri corespunde componentei sarcomatoide observate în tumora primară și evidențiază trăsături compatibile cu proprietăți de tipul tranziției epitelio-mezenchimale.

ETK-1 a fost, de asemenea, utilizată ca model pentru studierea plasticității celulare și a diferențierii liniei celulare în colangiocarcinom. Tratatamentul cu 5-azacitidină, un inhibitor al metiltransferazei ADN-ului, a indus modificări morfologice și fenotipice, rezultând o linie celulară derivată cu caracteristici asemănătoare hepatocitelor, inclusiv expresia AFP, albuminei, integrinei $\alpha 1$ și trombopoietinei, împreună cu pierderea anumitor markeri biliari. În modelele de xenogrefă, celulele ETK-1 netratate formează tumori compatibile cu adenocarcinomul tubular, prezentând un fenotip ductal. Aceste constatări demonstrează că ETK-1 își păstrează plasticitatea de diferențiere și servește ca un sistem in vitro valoros pentru investigarea transdiferențierii epiteliale biliare către hepatocite, a reglării epigenetice și a heterogenității tumorale în colangiocarcinomul intrahepatic.

Organism

Om

Tissue

Metastatic

Disease

Colangiocarcinomul

Metastatic site

Ascita

Synonyms

ETK1

Caracteristici

Age

61 de ani

Gender

Femei

Celulele ETK-1 | 305529

Ethnicity Japoneză**Growth properties** Aderent

Date de reglementare

Citation ETK-1 (număr de catalog Cytion 305529)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1206

Date biomoleculare

Mutational profile Mutație: p.Arg175His, homozigotă

Manipulare

Culture Medium RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Seeding density $1-3 \times 10^4$ celule/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână

Celulele ETK-1 | 305529

Post-Thaw Recovery

După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Celulele ETK-1 | 305529

Controlul calității și analiza moleculară