

Cellules ETK-1 | 305529

Renseignements généraux

Description

ETK-1 est une lignée cellulaire de cholangiocarcinome intrahépatique humain (IHCCA) initialement établie à partir du liquide ascitique d'un patient adulte atteint d'un cholangiocarcinome sarcomatoïde. La tumeur dont est issue la lignée ETK-1 présentait à la fois des composantes d'adénocarcinome tubulaire et sarcomatoïde, 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 vers le milieu de la fourchette des 70, 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 (ACE) 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 cellulaires dans le cholangiocarcinome. Le traitement par la 5-azacytidine, un inhibiteur de la méthyltransférase d'ADN, a induit des changements morphologiques et phénotypiques, donnant lieu 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** Adepté

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Mutational profile Mutation : p.Arg175His, homozygote

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min, 37 °C**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Seeding density** de 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 une densité 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 additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite dans la section « Récupération après décongélation ».

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

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules ETK-1 | 305529

Storage Conditions

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

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire