

Células ETK-1 | 305529

Informações gerais

Description

A ETK-1 é uma linhagem celular de colangiocarcinoma intra-hepático humano (IHCCA), originalmente isolada do líquido ascítico de um paciente adulto com colangiocarcinoma sarcomatóide. O tumor do qual a ETK-1 foi derivada apresentava componentes tanto de adenocarcinoma tubular quanto sarcomatóide, e a linhagem celular reflete o fenótipo sarcomatóide. As células ETK-1 crescem de forma aderente como uma monocamada epitelial uniforme com aparência de paralelepípedos, composta principalmente por pequenas células poligonais com núcleos redondos a ovais e nucléolos proeminentes. As células em passagens iniciais apresentaram um tempo de duplicação populacional de aproximadamente 70 horas e um cariótipo hiperdiplóide com um número modal de cromossomos na faixa de 70, consistente com a instabilidade cromossômica típica de neoplasias malignas agressivas do trato biliar.

Do ponto de vista imunofenotípico, as células ETK-1 expressam marcadores epiteliais biliares, incluindo γ -glutamyl transpeptidase (GGT), citoqueratina 18 (CK18) e citoqueratina 19 (CK19), confirmando sua origem colangiocítica. Elas são negativas para marcadores associados aos hepatócitos, como a alfa-fetoproteína (AFP) e a albumina, em condições basais. As células ETK-1 expressam vimentina, refletindo suas características sarcomatóides e fenótipo mesenquimal parcial, ao mesmo tempo em que não apresentam expressão do antígeno carcinoembrionário (CEA) e do antígeno carboidrático 19-9 (CA19-9). Esse perfil de marcadores corresponde ao componente sarcomatóide observado 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 DNA 5-azacitidina induziu alterações morfológicas e fenotípicas, resultando em uma linhagem 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, células ETK-1 não tratadas formam tumores consistentes com adenocarcinoma tubular, apresentando um fenótipo ductal. Esses achados demonstram que a ETK-1 mantém a plasticidade de diferenciação e serve como 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

Características

Age

61 anos

Células ETK-1 | 305529**Gender** Mulher**Ethnicity** Japonês**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****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**Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase, 5 min., 37 °C**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as 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, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo + 10% de DMSO para garantir uma viabilidade adequada após o descongelamento.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugue a mistura a 200 x g por 5 minutos e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento.
7. Siga o procedimento descrito na seção “Recuperação pós-descongelamento”

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células ETK-1 | 305529

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular