ETK-1

305529

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

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 hiperdiplóide 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 α1 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.

Tecido	Metastático
Doença	Colangiocarcinoma
Local da metástase	Ascite

Sinónimos

- ETK1

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

IDENTIFICADORES

Referência

ETK-1 (número de catálogo da Cytion 305529)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606

Cellosaurus	CVCL_1206

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

Mutação: p.Arg175His, homozigótica

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase, 5 min., 37 °C

Subcultura

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.

Densidade de sementeira	1 a 3 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana
Recuperação após o descongelamento	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

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

Condições de armazenamento

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.

Condições de envio

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.

DOADOR

Idade do dador	61 anos
Etnia	Japonês

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes