

Клетки KYSE180 | 305450

Обща информация

Description

Клетъчната линия KYSE180 е модел на плоскоклетъчен карцином на хранопровода (ESCC) при човека, получен от първичен тумор. Тази клетъчна линия се класифицира като умерено диференцирана и проявява редица генетични промени, характерни за ESCC, включително мутации в сигналния път на NRF2 (NFE2L2). По-конкретно, клетките KYSE180 притежават мутацията NRF2 D77V, която допринася за хиперактивацията на NRF2 – транскрипционен фактор, участващ в реакцията към оксидативния стрес и прогресията на тумора.

Клетките KYSE180 се използват широко за изучаване на молекулярните механизми на ESCC, включително химиорезистентността и онкогенното сигнализиране. Повишената активност на NRF2 в клетките KYSE180 е свързана с резистентност към химиотерапия и лъчетерапия, тъй като NRF2 усилва клетъчните антиоксидантни защитни механизми и метаболитните адаптации. Неотдавнашни изследвания са идентифицирали съединения като пириметамин, които инхибират NRF2 сигнализацията, което води до намалена пролиферация и туморогенност на клетките KYSE180. Такива проучвания подчертават терапевтичния потенциал на насочването към NRF2 при ракови заболявания с високи нива на NRF2.

Освен това клетките KYSE180 са използвани за оценка на ролята на семейството ензими алдо-кето редуктази (AKR), по-специално AKR1C1 и AKR1C2, в метаболизма на лекарствата и химиопревенцията. Експресията на тези ензими е повишена в клетките KYSE180, което повишава чувствителността към агенти като етил-3,4-дихидроксибензоат (EDHB). Това съединение индуцира апоптоза и автофагия, което доказва полезността на клетъчната линия при изследване на реакциите към лекарства и механизмите на клетъчния стрес при ESCC.

Organism

Човек

Tissue

Езофагус

Disease

Плоскоклетъчен карцином

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Характеристики

Age

53 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Японски

Morphology

Подобни на епител

Клетки KYSE180 | 305450

Growth properties

Прилепнали, монослойни

Регулаторни данни

Citation

KYSE180 (каталожен номер на Cytion 305450)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1349

Биомолекулярни данни

MSI-status

Стабилен (MSS)

Mutational profile

Мутация: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), хомозиготна

Работа с

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements

Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density

 $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$

Fluid renewal

2 пъти седмично

Клетки KYSE180 | 305450

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки KYSE180 | 305450

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.