

Клетки KYSE520 | 305449

Обща информация

Description

Клетъчната линия KYSE520 е модел на човешки езофагеален плоскоклетъчен карцином (ESCC), получен от първичен тумор. Тя е умерено диференцирана и е от съществено значение за изследване на епително-мезенхимната пластичност (ЕМП) при рак на хранопровода. Клетките KYSE520 показват хетерогенност, състояща се от епителиални (CD44v+) и мезенхимни (CD44v-) субпопулации. Тези две популации са способни да се преобразуват, което отразява динамичния процес на ЕМП. Това свойство превръща KYSE520 в отличен модел за изучаване на характеристиките на раковите стволови клетки и механизмите на химиорезистентност при ESCC.

От генетична гледна точка клетките KYSE520 показват забележителна епигенетична регулация. Промоторната област на гена JAM3, туморен супресор, е неметилирана в тези клетки, което позволява неговата експресия. JAM3 играе роля в регулирането на клетъчната пролиферация, миграция и инвазия чрез Wnt/ β -катенин сигнализацията. Поддържането на експресията на JAM3 в KYSE520 е свързано с потискането на агресивните ракови фенотипове.

В терапевтичните изследвания клетките KYSE520 са използвани за изследване на ролята на рецептора за фибробластен растежен фактор, подобен на 1 (FGFRL1). Проучванията показват, че при FGFRL1-дефицитните клетки KYSE520 се наблюдава намален туморен растеж и подвижност, заедно с намаляване на експресията на матрична металопротеиназа-1 (MMP-1) и свързващ протеин на фибробластния растежен фактор 1 (FGFBP1). Тези открития подчертават значението на FGFRL1 в туморогенезата и предлагат потенциални терапевтични цели. Освен това динамиката на ЕМП и свързаните с нея молекулярни пътища в клетките на KYSE520 дават представа за прогресията на ESCC и механизмите на резистентност, като допринасят за разработването на целеви лечения.

Organism Човек

Tissue Езофагус

Disease Плоскоклетъчен карцином

Synonyms KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520

Характеристики

Age 58 години

Gender Жена

Ethnicity Японски

Morphology Подобни на епител

Клетки KYSE520 | 305449

Growth properties Прилепнали, монослойни

Регулаторни данни

Citation KYSE520 (каталожен номер 305449 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1355

Биомолекуларни данни

Oncogenes TP53, MYC

Mutational profile Мутация: TP53, с.376-2A>T, акцепторна мутация

Работа с

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820700a); смес 1:1

Supplements Допълнете средата с 2% 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 ресуспендирайте, 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 0,6 - 1,2 x 10⁴ клетки/cm²

Клетки KYSE520 | 305449

Fluid renewal 2 пъти седмично**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 или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 x 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 Atmosphere37°C, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.**Flask Coating**

Няма

Клетки KYSE520 | 305449

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка 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.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка 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 / Генетичен профил / HLA

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.