

Клетки KYSE-30 | 305094

Обща информация

Description

KYSE-30 е добре диференцирана човешка клетъчна линия на плоскоклетъчен карцином на хранопровода (ESCC), получена от първичен тумор на възрастен пациент. Като част от серията KYSE, тази клетъчна линия е създадена за изследване на молекулярните и клетъчните характеристики на рака на хранопровода. Клетките KYSE-30 се отличават с бърза пролиферация, като времето за удвояване е 20,8 часа, което ги прави надежден модел за *in vitro* изследвания на рака. Тези клетки растат предимно като адхерентни монослоеви, като показват характерна многоъгълна форма и равномерен вид при фазово-контрастна микроскопия. Моделът им на растеж е типичен за раковите клетки, получени от епител, като образуват плътно подредени колонии с тенденция да се натрупват по неорганизиран начин, което отразява инвазивния характер на тумора, от който са получени.

От генетична гледна точка KYSE-30 е значим с измененията си в ключови туморсупресорни гени. Клетъчната линия показва конфигурация на див тип за гените p16 (INK4a) и p15 (INK4b), но носи забележителна точкова мутация в гена p16, която води до преждевременен стоп кодон, водещ до съкратен, нефункционален протеин. Тази мутация вероятно допринася за загубата на контрол на клетъчния цикъл, като насърчава неконтролируемото размножаване, характерно за раковите клетки. Запазването на дивия тип на гена p15 обаче предполага, че промените в гена p16 играят по-критична роля в онкогенезата на KYSE-30, което може да е от значение при проучвания, фокусирани върху диференциалните роли на тези гени при рака.

KYSE-30 е туморогенен, както се вижда от способността му да образува тумори при инжектиране в атимни голи мишки, което го прави отличен модел за *in vivo* изследвания на ESCC. Хистологичното изследване на туморите, образувани от клетките на KYSE-30, показва характеристики, подобни на оригиналния плоскоклетъчен карцином, което осигурява вярно представяне на заболяването. Тази клетъчна линия е безценна за изследване на механизмите на туморогенезата, генетичните и епигенетичните промени, обуславящи рака на хранопровода, и за разработване на целеви терапии, въпреки че не е подходяща за терапевтични или *in vivo* приложения.

Organism Човек

Tissue Езофагеален плоскоклетъчен епител

Disease Езофагеален плоскоклетъчен карцином

Synonyms Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030

Характеристики

Age 64 години

Gender Мъжки

Ethnicity Азиатски

Клетки KYSE-30 | 305094

Morphology Подобен на епител, с дълъг псевдопод

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation KYSE-30 (каталожен номер 305094 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1351

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium Моля, смесете Ham's F12 и RPMI 1640 в съотношение 50:50 (номера на изделията на Cytion 820600a и 820702a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 до 30 часа

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.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Клетки KYSE-30 | 305094

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 антимикуробен 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки KYSE-30 | 305094

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.