

Buňky KYSE520 | 305449

Obecné informace

Description

Buněčná linie KYSE520 je model lidského spinocelulárního karcinomu jícnu (ESCC) odvozený z primárního nádoru. Je středně diferencovaná a má zásadní význam pro zkoumání epiteliálně-mezenchymální plasticity (EMP) u karcinomu jícnu. Buňky KYSE520 vykazují heterogenitu a skládají se jak z epiteliálních (CD44v+), tak mezenchymálních (CD44v-) subpopulací. Tyto dvě populace jsou schopny vzájemné konverze, což odráží dynamický proces EMP. Díky této vlastnosti je KYSE520 vynikajícím modelem pro studium vlastností nádorových kmenových buněk a mechanismů chemorezistence u ESCC.

Z genetického hlediska vykazují buňky KYSE520 pozoruhodnou epigenetickou regulaci. Promotorová oblast genu JAM3, nádorového supresoru, je v těchto buňkách nemetylovaná, což umožňuje jeho expresi. JAM3 hraje roli v regulaci buněčné proliferace, migrace a invaze prostřednictvím signalizace Wnt/ β -katenin. Udržování exprese JAM3 v KYSE520 je spojeno s potlačením agresivních nádorových fenotypů.

V terapeutickém výzkumu byly buňky KYSE520 použity ke zkoumání úlohy receptoru podobného fibroblastovému růstovému faktoru 1 (FGFRL1). Studie ukázaly, že buňky KYSE520 s deficitem FGFRL1 vykazují snížený růst a pohyblivost nádorů spolu se snížením exprese matrixové metaloproteinázy-1 (MMP-1) a proteinu vázajícího fibroblastový růstový faktor 1 (FGFBP1). Tato zjištění podtrhují význam FGFRL1 v tumorigenezi a naznačují potenciální terapeutické cíle. Dynamika EMP a související molekulární dráhy v buňkách KYSE520 navíc poskytují vhled do progresu ESCC a mechanismů rezistence, což přispívá k vývoji cílené léčby.

Organism Člověk**Tissue** Jícen**Disease** Dlaždicobuněčný karcinom**Synonyms** KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520

Charakteristika

Age 58 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Japonský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní, monovrstva

Regulační údaje

Buňky KYSE520 | 305449

Citation KYSE520 (katalogové číslo Cytion 305449)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1355**Biomolekulární data****Oncogenes** TP53, MYC**Mutational profile** Mutace: TP53, c.376-2A>T, akceptorová mutace sestřihu**Zpracování****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a); směs 1:1**Supplements** Doplňte médium o 2% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Pro běžné kultivace se doporučuje poměr 1:6 až 1:8.**Seeding density** 0,6–1,2 × 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky KYSE520 | 305449

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KYSE520 | 305449

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.