

Buňky KYSE-30 | 305094**Obecné informace****Description**

KYSE-30 je dobře diferencovaná buněčná linie lidského spinocelulárního karcinomu jícnu (ESCC) odvozená z primárního nádoru dospělého pacienta. Tato buněčná linie byla jako součást série KYSE založena za účelem studia molekulárních a buněčných charakteristik karcinomu jícnu. Buňky KYSE-30 se vyznačují rychlou proliferací s dobou zdvojení 20,8 hodiny, což z nich činí robustní model pro výzkum rakoviny in vitro. Tyto buňky rostou převážně jako adherentní monovrstvy, vykazují charakteristický polygonální tvar a jednotný vzhled při fázově kontrastní mikroskopii. Jejich růstový vzorec je typický pro nádorové buňky odvozené od epitelu, tvoří těsně pohromadě kolonie s tendencí k neuspořádanému hromadění, což odráží invazivní povahu nádoru, z něhož byly odvozeny.

Z genetického hlediska je KYSE-30 významný svými změnami v klíčovém nádorových supresorových genech. Buněčná linie vykazuje divoký typ genů p16 (INK4a) a p15 (INK4b), ale nese pozoruhodnou bodovou mutaci v genu p16, která vede k předčasnému stop kodonu, což vede ke zkrácení nefunkčního proteinu. Tato mutace pravděpodobně přispívá ke ztrátě kontroly buněčného cyklu a podporuje nekontrolovanou proliferaci charakteristickou pro nádorové buňky. Zachování divokého typu genu p15 však naznačuje, že změny genu p16 hrají v onkogenezi KYSE-30 zásadnější roli, což může mít význam ve studiích zaměřených na rozdílné role těchto genů v rakovině.

KYSE-30 je tumorigenní, což dokazuje jeho schopnost vytvářet nádory po injekčním podání athymickým nahým myším, což z něj činí vynikající model pro in vivo studie ESCC. Histologické vyšetření nádorů vytvořených buňkami KYSE-30 vykazuje charakteristiky podobné původnímu dlaždicobuněčnému karcinomu, což poskytuje věrné zobrazení onemocnění. Tato buněčná linie je neocenitelná pro výzkum mechanismů tumorigeneze, genetických a epigenetických změn, které jsou příčinou vzniku karcinomu jícnu, a pro vývoj cílené terapie, ačkoli není vhodná pro terapeutické nebo in vivo aplikace.

Organism Člověk**Tissue** Skvamózní epitel jícnu**Disease** Skvamózní karcinom jícnu**Synonyms** Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030**Charakteristika****Age** 64 let**Gender** Muži**Ethnicity** Asijské**Morphology** Epiteloidní, s dlouhým pseudopodem

Buňky KYSE-30 | 305094

Growth properties	Adherentní
--------------------------	------------

Regulační údaje

Citation	KYSE-30 (katalogové číslo Cytion 305094)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1351
-----------------------------	-----------

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	Smíchejte Ham's F12 a RPMI 1640 v poměru 50:50 (čísla článků Cytion 820600a a 820702a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	20 až 30 hodin
----------------------	----------------

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	1: 3 až 1: 5
--------------------	--------------

Fluid renewal	2 až 3krát 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 KYSE-30 | 305094

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KYSE-30 | 305094

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.

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 vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10
D13S317: 9
D16S539: 10,12
D5S818: 11
D7S820: 11,11.3
TH01: 9
TPOX: 9
vWA: 16,18,19
D3S1358: 15,16
D21S11: 28
D18S51: 14
Penta E: 13
Penta D: 12
D8S1179: 12,15
FGA: 24
D6S1043: 11,20
D2S1338: 23
D12S391: 17,19
D19S433: 14.2,15.2