

Buňky KYSE-410 | 305122

Obecné informace

Description

KYSE-410 je buněčná linie lidského spinocelulárního karcinomu jícnu (ESCC), která byla vytvořena z primárního nádoru resekovaného dospělému pacientovi. Tato buněčná linie je součástí řady KYSE, která zahrnuje několik modelů ESCC navržených tak, aby poskytovaly komplexní nástroj pro studium různých aspektů rakoviny jícnu. KYSE-410 má dobu zdvojení 24,2 hodiny, což odráží střední proliferační schopnost. Rostou jako adherentní monovrstvy, což je běžný rys epiteliálních nádorových buněk, a při fázově kontrastní mikroskopii vykazují relativně jednotnou morfologii.

Na genetické úrovni se KYSE-410 vyznačuje zejména epigenetickými změnami. Gen p16 (INK4a) v KYSE-410 vykazuje hypermetylaci 5' CpG ostrovů, což je změna, která vede k umlčení tohoto klíčového nádorového supresorového genu. Tato epigenetická změna je významnou příčinou onkogeneze u mnoha druhů rakoviny, včetně ESCC, protože vede ke ztrátě regulace buněčného cyklu a nekontrolované proliferaci buněk. Navzdory tomu si KYSE-410 zachovává divoký typ genu p15 (INK4b), což poukazuje na selektivní inaktivaci p16, která je typická pro některé podtypy rakoviny.

Buněčná linie KYSE-410 je tumorigenní, což dokazuje její schopnost vyvolat tvorbu nádorů při implantaci do athymických nahých myší. Histologická analýza těchto nádorů vykazuje znaky odpovídající dlaždicobuněčnému karcinomu, což z KYSE-410 činí vhodný model pro studie in vivo. Tato buněčná linie je velmi cenná pro výzkum zaměřený na pochopení role epigenetických modifikací v progresi rakoviny a také pro testování účinnosti terapií zaměřených na epigenetické regulátory, ačkoli není určena pro terapeutické nebo in vivo aplikace.

Organism

Člověk

Tissue

Jícen

Disease

Skvamózní karcinom jícnu

Synonyms

KYSE 410, KYSE410, Kyse410, KYSE0410

Charakteristika

Age

51 let

Gender

Muži

Ethnicity

Asijské

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Buňky KYSE-410 | 305122

Regulační údaje

Citation	KYSE-410 (katalogové číslo Cytion 305122)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1352

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	32 až 45 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: 4 až 1: 6
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ /cm ²
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-410 | 305122**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 KYSE-410 | 305122

**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 a molekulární analýza**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 vizuálnímu kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 12

D13S317: 11

D16S539: 10,12

D5S818: 13

D7S820: 12

TH01: 8

TPOX: 8,11

vWA: 16,18

D3S1358: 15,16

D21S11: 30

D18S51: 13,15

Penta E: 8,12

Penta D: 11

D8S1179: 10

FGA: 20

D6S1043: 13,15

D2S1338: 17,19

D12S391: 17,19

D19S433: 13