

KYSE180-celler | 305450**Generel information****Description**

KYSE180-cellelinjen er en model for pladecellekarcinom i spiserøret (ESCC) hos mennesker, der stammer fra en primær tumor. Denne cellelinje klassificeres som moderat differentieret og udviser en række genetiske ændringer, der er karakteristiske for ESCC, herunder mutationer i NRF2 (NFE2L2)-signalvejen. Mere specifikt bærer KYSE180-celler NRF2 D77V-mutationen, som bidrager til hyperaktivering af NRF2, en transkriptionsfaktor, der er involveret i responsen på oxidativt stress og tumorprogression.

KYSE180-celler anvendes i vid udstrækning til at undersøge de molekulære mekanismer bag ESCC, herunder kemoresistens og onkogen signalering. Forhøjet NRF2-aktivitet i KYSE180-celler er blevet knyttet til resistens over for kemoterapi og strålebehandling, da NRF2 styrker cellernes antioxidante forsvar og metaboliske tilpasninger. Nyere forskning har identificeret forbindelser som pyrimethamin, der hæmmer NRF2-signalering, hvilket resulterer i nedsat proliferation og tumorigenicitet hos KYSE180-celler. Sådanne studier fremhæver det terapeutiske potentiale ved at målrette behandlingen mod NRF2 i kræftformer med højt NRF2-niveau.

Derudover er KYSE180-celler blevet anvendt til at evaluere rollen af enzymerne i aldo-keto-reduktase (AKR)-familien, især AKR1C1 og AKR1C2, i lægemiddelmetabolisme og kemoprævention. Ekspressionen af disse enzymer er opreguleret i KYSE180-celler, hvilket øger følsomheden over for stoffer som ethyl-3,4-dihydroxybenzoat (EDHB). Dette stof inducerer apoptose og autofagi, hvilket demonstrerer cellelinjens anvendelighed i undersøgelsen af lægemiddelrespons og cellulære stressmekanismer i ESCC.

Organism

Menneske

Tissue

Spiserør

Disease

Pladecellekarcinom

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Karakteristika**Age**

53 år

Gender

Mand

Ethnicity

Japansk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhæftende, monolag

Regulatoriske data

KYSE180-celler | 305450**Citation** KYSE180 (Cytion-katalognummer 305450)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1349**Biomolekylære data****MSI-status** Stabil (MSS)**Mutational profile** Mutation: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), homozygot**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

KYSE180-celler | 305450

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

KYSE180-celler | 305450

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.