Product sheet

Κύτταρα KYSE180 | 305450

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά KYSE180 αποτελεί μοντέλο ανθρώπινου πλακώδους καρκινώματος του οισοφάγου (ESCC) που προέρχεται από πρωτογενή όγκο. Η εν λόγω κυτταρική σειρά κατατάσσεται ως μέτρια διαφοροποιημένη και παρουσιάζει μια σειρά γενετικών μεταλλάξεων χαρακτηριστικών του ESCC, συμπεριλαμβανομένων μεταλλάξεων στην οδό σηματοδότησης NRF2 (NFE2L2). Συγκεκριμένα, τα κύτταρα KYSE180 φέρουν τη μετάλλαξη NRF2 D77V, η οποία συμβάλλει στην υπερενεργοποίηση του NRF2, ενός παράγοντα μεταγραφής που εμπλέκεται στην απόκριση στο οξειδωτικό στρες και στην εξέλιξη του όγκου. Τα κύτταρα KYSE180 χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών του ESCC, συμπεριλαμβανομένης της χημειοαντοχής και της ογκογόνου σηματοδότησης. Η αυξημένη δραστηριότητα του NRF2 στα κύτταρα KYSE180 έχει συνδεθεί με την αντοχή στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία, καθώς το NRF2 ενισχύει τις κυτταρικές αντιοξειδωτικές άμυνες και τις μεταβολικές προσαρμογές. Πρόσφατες έρευνες έχουν εντοπίσει ενώσεις όπως η πυριμεθαμίνη, οι οποίες αναστέλλουν τη σηματοδότηση του NRF2, με αποτέλεσμα τη μείωση του πολλαπλασιασμού και της ογκογένεσης των κυττάρων KYSE180. Τέτοιες μελέτες υπογραμμίζουν το θεραπευτικό δυναμικό της στόχευσης του NRF2 σε καρκίνους με υψηλά επίπεδα NRF2. Επιπλέον, τα κύτταρα KYSE180 έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση του ρόλου της οικογένειας ενζύμων αλδο-κετο-αναγωγάσης (AKR), ιδίως των AKR1C1 και AKR1C2, στο μεταβολισμό των φαρμάκων και στη χημειοπρόληψη. Η έκφραση αυτών των ενζύμων είναι αυξημένη στα κύτταρα KYSE180, ενισχύοντας την ευαισθησία σε παράγοντες όπως το αιθυλ-3,4-διυδροξυβενζοϊκό (EDHB). Η ένωση αυτή προκαλεί απόπτωση και αυτοφαγία, αποδεικνύοντας τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς στη διερεύνηση των αντιδράσεων στα φάρμακα και των μηχανισμών κυτταρικού στρες στον καρκίνο του οισοφάγου (ESCC).
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Οισοφάγος
Disease	Καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων
Synonyms	KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Χαρακτηριστικά

Age	53 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ιαπωνικά
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο, μονοστρωματικό

Κύτταρα KYSE180 | 305450

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	KYSE180 (αριθμός καταλόγου Cytion 305450)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1349

Βιομοριακά δεδομένα

MSI-status	Σταθερό (MSS)
Mutational profile	Μετάλλαξη: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), ομόζυγη

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	$2\text{-}4*10^4/cm^2$
Fluid renewal	2 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα KYSE180 | 305450

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα KYSE180 | 305450

Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.