

Κύτταρα KYSE-30 | 305094

Γενικές πληροφορίες

Description

Το KYSE-30 είναι μια καλά διαφοροποιημένη ανθρώπινη κυτταρική σειρά πλακώδους καρκινώματος του οισοφάγου (ESCC) που προέρχεται από πρωτογενή όγκο σε ενήλικα ασθενή. Ως μέρος της σειράς KYSE, αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε για τη μελέτη των μοριακών και κυτταρικών χαρακτηριστικών του καρκίνου του οισοφάγου. Τα κύτταρα KYSE-30 διακρίνονται για τον ταχύ πολλαπλασιασμό τους, με χρόνο διπλασιασμού 20,8 ώρες, γεγονός που τα καθιστά ένα ισχυρό μοντέλο για την *in vitro* έρευνα του καρκίνου. Τα κύτταρα αυτά αναπτύσσονται κυρίως ως προσκολλημένες μονοστρώσεις, εμφανίζοντας χαρακτηριστικό πολυγωνικό σχήμα και ομοιόμορφη εμφάνιση σε μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης. Το πρότυπο ανάπτυξής τους είναι τυπικό για τα καρκινικά κύτταρα επιθηλιακής προέλευσης, σχηματίζοντας πυκνές αποικίες με τάση να συσσωρεύονται με ανοργάνωτο τρόπο, αντανακλώντας την επεμβατική φύση του όγκου από τον οποίο προέρχονται.

Γενετικά, ο KYSE-30 είναι σημαντικός για τις μεταβολές του σε βασικά ογκοκατασταλτικά γονίδια. Η κυτταρική σειρά εμφανίζει διαμόρφωση άγριου τύπου για τα γονίδια p16 (INK4a) και p15 (INK4b), αλλά φέρει μια αξιοσημείωτη σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο p16 που οδηγεί σε ένα πρόωρο κωδικόνιο στάσης, οδηγώντας σε μια κουτσουρεμένη, μη λειτουργική πρωτεΐνη. Αυτή η μετάλλαξη συμβάλλει πιθανώς στην απώλεια του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, προωθώντας τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό που χαρακτηρίζει τα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο, η διατήρηση του γονιδίου p15 άγριου τύπου υποδηλώνει ότι οι μεταβολές του γονιδίου p16 διαδραματίζουν πιο κρίσιμο ρόλο στην ογκογένεση του KYSE-30, γεγονός που μπορεί να έχει σημασία σε μελέτες που εστιάζουν στους διαφορετικούς ρόλους αυτών των γονιδίων στον καρκίνο.

Το KYSE-30 είναι καρκινικό, όπως αποδεικνύεται από την ικανότητά του να σχηματίζει όγκους όταν εγχέεται σε αθυμικά γυμνά ποντίκια, γεγονός που το καθιστά εξαιρετικό μοντέλο για *in vivo* μελέτες του ESCC. Η ιστολογική εξέταση των όγκων που σχηματίζονται από κύτταρα KYSE-30 παρουσιάζει χαρακτηριστικά παρόμοια με το αρχικό πλακώδες καρκίνωμα, παρέχοντας μια πιστή αναπαράσταση της νόσου. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ανεκτίμητη για την έρευνα των μηχανισμών της καρκινογένεσης, των γενετικών και επιγενετικών αλλαγών που οδηγούν στον καρκίνο του οισοφάγου και την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών, αν και δεν είναι κατάλληλη για θεραπευτικές ή *in vivo* εφαρμογές.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Οισοφαγικό πλακώδες επιθήλιο

Disease

Καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου

Synonyms

Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030

Χαρακτηριστικά

Age

64 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Ασιατικό

Κύτταρα KYSE-30 | 305094

Morphology Επιθηλιοειδές, με μακρύ ψευδοπόδι

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation KYSE-30 (αριθμός καταλόγου Cytion 305094)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1351

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium Αναμείξτε το Ham's F12 και το RPMI 1640 σε αναλογία 50:50 (αριθμοί άρθρων Cytion 820600a και 820702a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 έως 30 ώρες

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.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα KYSE-30 | 305094**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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα KYSE-30 | 305094

Freezing Procedure

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.

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.

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.