

KYSE180 rakud | 305450

Üldine teave

Description

Rakuliin KYSE180 on primaartuumorist saadud inimese söögitoru lamerakulise kartsinoomi (ESCC) mudel. Seda rakuliini liigitatakse mõõdukalt diferentseerituks ning sellel esineb mitmeid ESCC-le iseloomulikke geneetilisi muutusi, sealhulgas mutatsioone NRF2 (NFE2L2) signaalitees. Täpsemalt sisaldavad KYSE180 rakud NRF2 D77V mutatsiooni, mis soodustab NRF2 hüperaktiveerumist – see on transkriptsioonifaktor, mis osaleb oksüdatiivse stressi vastuses ja kasvaja progresseerumises.

KYSE180-rakke kasutatakse laialdaselt ESCC molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, sealhulgas kemoresistentsuse ja onkogeense signaalimise uurimiseks. KYSE180-rakkudes täheldatud kõrgeenenud NRF2 aktiivsust on seostatud resistentsusega kemoteraapia ja kiiritusravi suhtes, kuna NRF2 tugevdab rakkude antioksidantset kaitset ja ainevahetuse kohanemist. Hiljutised uuringud on tuvastanud ühendeid, nagu pürimetamiin, mis pärsvad NRF2 signaalimist, mille tulemusena väheneb KYSE180 rakkude proliferatsioon ja tuumorigeensus. Sellised uuringud rõhutavad NRF2-le suunatud ravi potentsiaali NRF2-rikkastes vähivormides.

Lisaks on KYSE180 rakke kasutatud aldo-ketoreduktaasi (AKR) ensüümide perekonna, eriti AKR1C1 ja AKR1C2 rolli hindamiseks ravimite metabolismis ja kemopreventsioonis. Nende ensüümide ekspressioon on KYSE180-rakkudes ülesreguleeritud, mis suurendab tundlikkust selliste ainete suhtes nagu etüül-3,4-dihüdrosübensoaat (EDHB). See ühend indutseerib apoptoosi ja autofaagiat, mis näitab selle rakuliini kasulikkust ravimireaktsioonide ja rakuliste stressimehhanismide uurimisel söögitoru kartsinoomis (ESCC).

Organism

Inimene

Tissue

Söögitoru

Disease

Rakk-kartsinoom

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Omadused

Age

53 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Jaapani

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Adherent, monokihiline

Regulatiivsed andmed

KYSE180 rakud | 305450

Citation KYSE180 (Cytioni katalooginumber 305450)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1349

Biomolekulaarsed andmed

MSI-status Stabiilne (MSS)**Mutational profile** Mutatsioon: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), homosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KYSE180 rakud | 305450**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

KYSE180 rakud | 305450

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.