

KYSE520 rakud | 305449

Üldine teave

Description

KYSE520 rakuliin on inimese söögitoru lamerakk-kartsinoomi (ESCC) mudel, mis on saadud primaarsest kasvajast. See on mõõdukalt diferentseerunud ja on olnud oluline epiteeli-mesenhümaalse plastilisuse (EMP) uurimisel söögitoruvähi puhul. KYSE520 rakud on heterogeensed, koosnedes nii epiteelilaadsetest (CD44v+) kui ka mesenhüümlaadsetest (CD44v-) alampopulatsioonidest. Need kaks populatsiooni on võimelised omavahel muutuma, mis peegeldab dünaamilist EMP protsessi. See omadus muudab KYSE520 suurepäraseks mudeliks vähi tüvirakkude omaduste ja keemiaresetentsuse mehhanismide uurimiseks ESCC-s.

Geneetiliselt on KYSE520 rakkudel märkimisväärne epigeneetiline regulatsioon. Kasvaja supressoriks oleva JAM3 geeni promootorpiirkond on neis rakkudes mittemetüülitud, võimaldades selle ekspressiooni. JAM3 mängib rolli rakkude proliferaatsiooni, migratsiooni ja invasiivsuse reguleerimisel Wnt/ β -kateniini signaalsüsteemi kaudu. JAM3 ekspressiooni säilitamine KYSE520-s on seotud agressiivse vähi fenotüübi allasurumisega.

Terapeutilistes uuringutes on KYSE520 rakke kasutatud fibroblastide kasvufaktori sarnase retseptori 1 (FGFRL1) rolli uurimiseks. Uuringud on näidanud, et FGFRL1 puudulikud KYSE520 rakud näitavad vähenenud kasvujate kasvu ja liikuvust ning vähenenud maatriksi metalloproteiin-1 (MMP-1) ja fibroblastide kasvufaktorit siduvate valkude 1 (FGFBP1) ekspressiooni. Need leiud rõhutavad FGFRL1 tähtsust kasvujate tekkimisel ja viitavad potentsiaalsetele terapeutilistele sihtmärkidele. Lisaks annavad EMP dünaamika ja sellega seotud molekulaarradad KYSE520 rakkudes ülevaate ESCC progresseerumisest ja resistentsuse mehhanismidest, mis aitab kaasa sihipärase ravi väljatöötamisele.

Organism Inimene

Tissue Söögitoru

Disease Rakk-kartsinoom

Synonyms KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520, KYSE0520

Omadused

Age 58 aastat

Gender Naised

Ethnicity Jaapani

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Adherent, monokihiline

KYSE520 rakud | 305449

Regulatiivsed andmed

Citation	KYSE520 (Cytioni katalooginumbr 305449)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1355

Biomolekulaarsed andmed

Oncogenes	TP53, MYC
Mutational profile	Mutatsioon: TP53, c.376-2A>T, splaiisinguaktseptori mutatsioon: TP53, c.376-2A>T, splaiisinguaktseptori mutatsioon

Töötlemine

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikli number 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikli number 820700a); 1:1 segu
Supplements	Täiendada keskkonda 2% 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	0,6-1,2 x 10 ⁴ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 korda nädalas

KYSE520 rakud | 305449

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid 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 tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid 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 vialid 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 söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

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.

KYSE520 rakud | 305449

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

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

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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