

KYSE180-solut | 305450

Yleisiä tietoja

Description

KYSE180-solulinja on primaarista kasvaimesta johdettu ihmisen ruokatorven levyepiteelikarsinooman (ESCC) malli. Tämä solulinja luokitellaan kohtalaisen erilaistuneeksi, ja siinä esiintyy useita ESCC:lle tyypillisiä geneettisiä muutoksia, mukaan lukien mutaatiot NRF2 (NFE2L2)-signaalintireitissä. Erityisesti KYSE180-soluissa esiintyy NRF2 D77V -mutaatio, joka edistää NRF2:n yliaktivaatiota; NRF2 on transkriptiotekijä, joka osallistuu oksidatiivisen stressin vasteeseen ja kasvaimen etenemiseen.

KYSE180-soluja käytetään laajalti ESCC:n molekyylimekanismien tutkimiseen, mukaan lukien kemoresistenssi ja onkogeeninen signaali. KYSE180-solujen kohonnut NRF2-aktiivisuus on yhdistetty kemoterapian ja sädehoidon resistenssiin, sillä NRF2 tehostaa solujen antioksidanttista puolustuskykyä ja aineenvaihdunnan sopeutumista. Viimeaikaisissa tutkimuksissa on tunnistettu pyrimetamiinin kaltaisia yhdisteitä, jotka estävät NRF2-signaaliintia, mikä johtaa KYSE180-solujen lisääntymisen ja kasvaimenmuodostuskyvyn vähenemiseen. Tällaiset tutkimukset korostavat NRF2:n kohdentamisen terapeuttista potentiaalia syövässä, joissa NRF2-ilmentyminen on korkea.

Lisäksi KYSE180-soluja on käytetty arvioimaan aldo-ketoreduktaasi (AKR)-entsyymiperheen, erityisesti AKR1C1:n ja AKR1C2:n, roolia lääkeaineenvaihdunnassa ja kemopreventiossa. Näiden entsyymien ilmentyminen on lisääntynyt KYSE180-soluissa, mikä lisää herkkyttä aineille kuten etyyl-3,4-dihydroksibentsoaatille (EDHB). Tämä yhdiste indusoi apoptoosia ja autofagiaa, mikä osoittaa solulinjan hyödyllisyyden lääkevästeiden ja solustressimekanismien tutkimisessa ESCC:ssä.

Organism

Ihminen

Tissue

Ruokatorvi

Disease

Okasolusyöpä

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Ominaisuudet

Age

53 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Japanilainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva, yksikerroksinen

KYSE180-solut | 305450

Säätelytiedot

Citation	KYSE180 (Cytionin tuotenumero 305450)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1349

Biomolekyylitiedot

MSI-status	Vakaa (MSS)
Mutational profile	Mutaatio: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), homotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 kertaa viikossa

KYSE180-solut | 305450

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmääainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KYSE180-solut | 305450

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.