

KYSE180 sejtek | 305450

Általános információk

Description

A KYSE180 sejtvonal egy elsődleges daganatból származó, emberi nyelőcső-pikkelyes sejt karcinóma (ESCC) modell. Ez a sejtvonal közepesen differenciáltnak minősül, és az ESCC-re jellemző számos genetikai eltérést mutat, beleértve az NRF2 (NFE2L2) jelátviteli útvonal mutációit is. Konkrétan a KYSE180 sejtek hordozzák az NRF2 D77V mutációt, amely hozzájárul az NRF2 hiperaktivációjához; ez egy olyan transzkripció faktor, amely részt vesz az oxidatív stresszre adott válaszban és a tumor progressziójában.

A KYSE180 sejteket széles körben használják az ESCC molekuláris mechanizmusainak tanulmányozására, beleértve a kemoterápiás rezisztenciát és az onkogén jelátvitelt is. A KYSE180 sejtekben megfigyelt emelkedett NRF2-aktivitást összefüggésbe hozták a kemoterápiával és a sugárterápiával szembeni rezisztenciával, mivel az NRF2 fokozza a sejtek antioxidáns védekezését és metabolikus alkalmazkodását. A legújabb kutatások olyan vegyületeket azonosítottak, mint a pirimetamin, amelyek gátolják az NRF2 jelátvitelt, ami a KYSE180 sejtek szaporodásának és tumorigenitásának csökkenését eredményezi. Az ilyen tanulmányok rávilágítanak az NRF2-t célzó terápiák terápiás potenciáljára az NRF2-szintje magas rákos megbetegedések esetében.

Ezenkívül a KYSE180 sejteket használták az aldo-keto-reduktáz (AKR) enzimcsalád, különösen az AKR1C1 és az AKR1C2 szerepének értékelésére a gyógyszer-metabolizmusban és a kemoprevencióban. Ezen enzimek expressziója a KYSE180 sejtekben fokozott, ami növeli az érzékenységet olyan hatóanyagokra, mint az etil-3,4-dihidroxibenzoát (EDHB). Ez a vegyület apoptózist és autofágiát indukál, ami bizonyítja a sejtvonal hasznosságát az ESCC-ben a gyógyszerre adott válaszok és a sejtstressz-mechanizmusok feltárásában.

Organism

Emberi

Tissue

Nyelőcső

Disease

Laphámsejt karcinóma

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Jellemzők

Age

53 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Japán

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherens, egyrétegű

KYSE180 sejtek | 305450

Szabályozási adatok

Citation	KYSE180 (Cytion katalógusszám: 305450)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1349

Biomolekuláris adatok

MSI-status	Stabil (MSS)
Mutational profile	Mutáció: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), homozigóta

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	hetente 2 alkalommal

KYSE180 sejtek | 305450**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

KYSE180 sejtek | 305450

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.