

KYSE520 sejtek | 305449

Általános információk

Description

A KYSE520 sejtvonal egy primer tumorból származó humán nyelőcső laphámsejtes karcinóma (ESCC) modell. Mérsékelten differenciált, és fontos szerepet játszott a nyelőcsőrak epiteliális-mesenchymális plaszticitásának (EMP) vizsgálatában. A KYSE520 sejtek heterogenitást mutatnak, mind epithelszerű (CD44v+), mind mesenchymális (CD44v-) alpopulációkból állnak. Ez a két populáció képes egymásba átalakulni, ami egy dinamikus EMP folyamatot tükröz. Ez a tulajdonság teszi a KYSE520-t kiváló modullé a rákos őssejtek tulajdonságainak és az ESCC kemorezisztencia mechanizmusainak tanulmányozására.

Genetikailag a KYSE520 sejtek figyelemre méltó epigenetikai szabályozást mutatnak. A tumorsuppresszor JAM3 gén promóter régiója ezekben a sejtekben nem metilálódik, ami lehetővé teszi az expresszióját. A JAM3 szerepet játszik a sejtproliferáció, a migráció és az invázió szabályozásában a Wnt/ β -katenin jelátvitelen keresztül. A JAM3 expressziójának fenntartása a KYSE520-ban az agresszív rákfentípusok elnyomásával van összefüggésben.

A terápiás kutatásokban KYSE520 sejteket használtak a fibroblaszt növekedési faktorhoz hasonló receptor 1 (FGFRL1) szerepének feltárására. Vizsgálatok kimutatták, hogy az FGFRL1-hiányos KYSE520 sejtek csökkent tumor növekedést és motilitást mutatnak, a mátrix metalloproteináz-1 (MMP-1) és a fibroblaszt növekedési faktor kötő fehérje 1 (FGFBP1) expressziójának csökkenése mellett. Ezek az eredmények aláhúzzák az FGFRL1 jelentőségét a tumorigenezisben, és potenciális terápiás célpontokat javasolnak. Emellett az EMP dinamikája és a KYSE520 sejtek kapcsolódó molekuláris útvonalai betekintést nyújtanak az ESCC progressziójába és a rezisztencia mechanizmusába, hozzájárulva a célzott kezelések kifejlesztéséhez.

Organism

Emberi

Tissue

Nyelőcső

Disease

Laphámsejtes karcinóma

Synonyms

KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520

Jellemzők

Age

58 év

Gender

Női

Ethnicity

Japán

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherens, egyrétegű

KYSE520 sejtek | 305449

Szabályozási adatok

Citation	KYSE520 (Cytion katalógusszám: 305449)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1355

Biomolekuláris adatok

Oncogenes	TP53, MYC
Mutational profile	Mutáció: TP53, c.376-2A>T, Splice akceptor mutáció

A kezelése

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion cikkszám 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion cikkszám 820700a); 1:1 keverék
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 2% 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	0,6–1,2 x 10 ⁴ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2 alkalommal

KYSE520 sejtek | 305449

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

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

KYSE520 sejtek | 305449

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

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

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

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.