

KYSE180 ląstelės | 305450

Bendra informacija

Description

KYSE180 ląstelių linija yra žmogaus stemplės plokščialąstelinio karcinomo (ESCC) modelis, gautas iš pirminio naviko. Ši ląstelių linija priskiriama vidutiniškai diferencijuotų ląstelių kategorijai ir pasižymi įvairiais ESCC būdingais genetiniais pokyčiais, įskaitant NRF2 (NFE2L2) signalinio kelio mutacijas. Tiksliau tariant, KYSE180 ląstelėse yra NRF2 D77V mutacija, kuri prisideda prie NRF2 hiperaktyvacijos – tai transkripcijos faktorius, dalyvaujantis oksidacinio streso reakcijoje ir naviko progresavime.

KYSE180 ląstelės plačiai naudojamos ESCC molekuliniams mechanizms tirti, įskaitant atsparumą chemoterapijai ir onkogeninius signalinius kelius. Padidėjęs NRF2 aktyvumas KYSE180 ląstelėse siejamas su atsparumu chemoterapijai ir radioterapijai, nes NRF2 stiprina ląstelių antioksidacinę apsaugą ir metabolinius prisitaikymus. Naujausi tyrimai leido identifikuoti junginius, pavyzdžiui, pirimetaminą, kurie slopina NRF2 signalizaciją, dėl ko sumažėja KYSE180 ląstelių proliferacija ir navikogeniškumas. Tokie tyrimai pabrėžia terapinį potencialą, susijusį su NRF2 slopinimu vėžio atvejais, kuriuose NRF2 aktyvumas yra didelis.

Be to, KYSE180 ląstelės buvo naudojamos aldo-keto reduktazės (AKR) fermentų šeimos, ypač AKR1C1 ir AKR1C2, vaidmeniui vaistų metabolizme ir chemoprevencijoje įvertinti. Šių fermentų ekspresija KYSE180 ląstelėse yra padidėjusi, o tai padidina jautrumą tokiems agentams kaip etil-3,4-dihidroksibenzoatas (EDHB). Šis junginys sukelia apoptozę ir autofagiją, o tai rodo šios ląstelių linijos naudą tiriant reakcijas į vaistus ir ląstelių streso mechanizmus ESCC atveju.

Organism

Žmogus

Tissue

Stemplė

Disease

Plokščialąstelinė karcinoma

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Charakteristikos

Age

53 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Japonų

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Priglundęs, viensluoksnis

Reguliavimo duomenys

KYSE180 ląstelės | 305450

Citation KYSE180 (Cytion katalogo numeris 305450)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1349

Biomolekuliniai duomenys

MSI-status Stabilus (MSS)**Mutational profile** Mutacija: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

KYSE180 ląstelės | 305450

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.