

KYSE-30 ląstelės | 305094

Bendra informacija

Description

KYSE-30 yra gerai diferencijuota žmogaus stemplės plokščialąstelinės karcinomos (ESCC) ląstelių linija, gauta iš suaugusio paciento pirminio naviko. Ši ląstelių linija, kaip KYSE serijos dalis, buvo sukurta stemplės vėžio molekuliniams ir ląstelinėms savybėms tirti. KYSE-30 ląstelės išsiskiria greitu dauginimusi - jų padvigubėjimo laikas yra 20,8 valandos, todėl jos yra patikimas vėžio tyrimų in vitro modelis. Šios ląstelės daugiausia auga kaip adherentiški monosluoksniai, pasižymintys būdinga daugiakampio forma ir vienodai atrodantys fazės kontrasto mikroskopijoje. Jų augimo modelis būdingas epitelinėms vėžio ląstelėms, kurios formuoja glaudžiai supakuotas kolonijas, linkusias neorganizuotai kauptis, o tai atspindi invazinį naviko, iš kurio jos buvo gautos, pobūdį.

Genetiniu požiūriu KYSE-30 yra svarbus dėl pagrindinių naviko slopinančių genų pokyčių. Ląstelių linija pasižymi laukinio tipo p16 (INK4a) ir p15 (INK4b) genų konfigūracija, tačiau p16 gene yra pastebima taškinė mutacija, dėl kurios atsiranda priešlaikinis stop kodonas, todėl susidaro sutrumpintas, nefunkcionalus baltymas. Tikėtina, kad ši mutacija lemia ląstelės ciklo kontrolės praradimą ir skatina nekontroliuojamą vėžinėms ląstelėms būdingą dauginimąsi. Tačiau laukinio tipo p15 geno išsaugojimas leidžia manyti, kad p16 geno pokyčiai vaidina svarbesnį vaidmenį KYSE-30 onkogenezeje, o tai gali būti aktualu atliekant tyrimus, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama skirtingiems šių genų vaidmenims vėžyje.

KYSE-30 yra tumorigeniškas, kaip rodo jo gebėjimas formuoti navikus, kai jis įšvirškiamas į afimines nude peles, todėl jis yra puikus modelis in vivo ESCC tyrimams. Histologiškai ištyrus KYSE-30 ląstelėmis suformuotus navikus, jie pasižymi panašiomis savybėmis į pirminę plokščialąstelinę karcinomą, todėl tiksliai atspindi ligą. Ši ląstelių linija yra neįkainojama tiriant naviko genezės mechanizmus, genetinius ir epigenetinius pokyčius, lemiančius stemplės vėžio atsiradimą, ir kuriant tikslingus gydymo būdus, nors ji netinka gydymui ar in vivo taikymui.

Organism	Žmogus
Tissue	Stemplės plokščiasis epitelis
Disease	Stemplės plokščialąstelinė karcinoma
Synonyms	Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030

Charakteristikos

Age	64 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Azijos
Morphology	Panašus į epitelinį, su ilgu pseudopodu

KYSE-30 ląstelės | 305094

Growth properties	Prigludęs
--------------------------	-----------

Reguliavimo duomenys

Citation	KYSE-30 (Cytion katalogo numeris 305094)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1351
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	Sumaišykite Ham's F12 ir RPMI 1640 santykiu 50:50 (Cytion straipsnių numeriai 820600a ir 820702a)
-----------------------	---

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	20-30 valandų
----------------------	---------------

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 perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

Fluid renewal	2-3 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.
----------------------	---

KYSE-30 ląstelės | 305094

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 x 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 perkelkite 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

KYSE-30 ląstelės | 305094

**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 perkelkite 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 perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

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.