

**KYSE180 šūnas | 305450**

**Vispārīga informācija**

**Description**

Šūnu līnija KYSE180 ir cilvēka barības vada plakanšūnu karcinomas (ESCC) modelis, kas iegūts no primārā audzēja. Šī šūnu līnija tiek klasificēta kā vidēji diferencēta un tai piemīt virkne ESCC raksturīgu ģenētisku izmaiņu, tostarp mutācijas NRF2 (NFE2L2) signālceļā. Konkrēti, KYSE180 šūnās ir NRF2 D77V mutācija, kas veicina NRF2 hiperaktivāciju — NRF2 ir transkripcijas faktors, kas iesaistīts oksidatīvā stresa reakcijā un audzēja progresēšanā.

KYSE180 šūnas plaši izmanto, lai pētītu ESCC molekulāros mehānismus, tostarp rezistenci pret ķīmijterapiju un onkogēno signālizāciju. Paaugstināta NRF2 aktivitāte KYSE180 šūnās ir saistīta ar rezistenci pret ķīmijterapiju un staru terapiju, jo NRF2 pastiprina šūnu antioksidatīvo aizsardzību un metaboliskās adaptācijas. Nesenie pētījumi ir identificējuši tādas vielas kā pirimetamīns, kas inhibē NRF2 signālceļu, rezultātā samazinot KYSE180 šūnu proliferāciju un tumorigenitāti. Šādi pētījumi uzsver NRF2 mērķtiecīgas iedarbības terapeitisko potenciālu vēža veidos ar augstu NRF2 līmeni.

Turklāt KYSE180 šūnas ir izmantotas, lai novērtētu aldo-keto reduktāzes (AKR) enzīmu ģimenes, jo īpaši AKR1C1 un AKR1C2, lomu zāļu metabolismā un ķīmiskajā profilaksē. Šo fermentu ekspresija KYSE180 šūnās ir paaugstināta, kas palielina jutību pret tādiem līdzekļiem kā etil-3,4-dihidroksibenzoāts (EDHB). Šis savienojums izraisa apoptozi un autofāgiju, apliecinot šīs šūnu līnijas lietderību ESCC zāļu reakciju un šūnu stresa mehānismu izpētē.

**Organism**

Cilvēks

**Tissue**

Barības vads

**Disease**

Plakanšūnu karcinoma

**Synonyms**

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

**Raksturojums**

**Age**

53 gadi

**Gender**

Vīrieši

**Ethnicity**

Japāņu

**Morphology**

Epitēlijveidīgs

**Growth properties**

Adhēzijas, monoslāņa

**Normatīvie dati**

## KYSE180 šūnas | 305450

**Citation** KYSE180 (Cytion kataloga numurs 305450)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1349

## Biomolekulārie dati

**MSI-status** Stabils (MSS)**Mutational profile** Mutācija: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), homozigota

## Darbs ar

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density**  $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**

**KYSE180 šūnas | 305450**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.