

## KYSE520 šūnas | 305449

## Vispārīga informācija

## Description

KYSE520 šūnu līnija ir cilvēka barības vada plakanšūnu karcinomas (ESCC) modelis, kas iegūts no primārā audzēja. Tā ir vidēji diferencēta un ir bijusi noderīga, pētot epitēlija-mezenhimālo plastiskumu (EMP) barības vada vēža gadījumā. KYSE520 šūnām piemīt heterogenitāte, un tās sastāv gan no epitēlijveidīgām (CD44v+), gan mezenhīmiskām (CD44v-) subpopulācijām. Šīs divas populācijas spēj savstarpēji mainīties, atspoguļojot dinamisku EMP procesu. Šī īpašība padara KYSE520 par lielisku modeli vēža cilmes šūnu īpašību un ķīmoresistences mehānismu izpētei ESCC.

Ģenētiski KYSE520 šūnām piemīt ievērojama epigenētiskā regulācija. Šajās šūnās audzēja supresora JAM3 gēna promotora reģions nav metilēts, kas nodrošina tā ekspresiju. JAM3 ir svarīga loma šūnu proliferācijas, migrācijas un invāzijas regulēšanā, izmantojot Wnt/ $\beta$ -katenīna signālus. JAM3 ekspresijas saglabāšana KYSE520 ir saistīta ar agresīvu vēža fenotipu nomākšanu.

Terapeitiskajos pētījumos KYSE520 šūnas ir izmantotas, lai izpētītu fibroblastu augšanas faktoram līdzīgā 1 receptoram (FGFRL1) nozīmi. Pētījumi liecina, ka FGFRL1 deficīta KYSE520 šūnām ir samazināta audzēja augšana un kustīgums, kā arī samazināta matricas metaloproteināzes-1 (MMP-1) un fibroblastu augšanas faktoru saistošā proteīna 1 (FGFBP1) ekspresija. Šie atklājumi uzsver FGFRL1 nozīmi audzēju rašanās procesā un norāda uz potenciāliem terapeitiskiem mērķiem. Turklāt EMP dinamika un ar to saistītie molekulārie ceļi KYSE520 šūnās sniedz ieskatu ESCC progresijā un rezistences mehānismos, veicinot mērķtiecīgu ārstēšanas veidu izstrādi.

## Organism

Cilvēks

## Tissue

Barības vads

## Disease

Plakanšūnu karcinoma

## Synonyms

KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520, KYSE0520

## Raksturojums

## Age

58 gadi

## Gender

Sievietes

## Ethnicity

Japāņu

## Morphology

Epitēlijveidīgs

## Growth properties

Adhēzijas, monoslāņa

## KYSE520 šūnas | 305449

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	KYSE520 (Cytion kataloga numurs 305449)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1355

## Biomolekulārie dati

<b>Oncogenes</b>	TP53, MYC
<b>Mutational profile</b>	Mutācija: TP53, c.376-2A>T, sazarojuma akceptora mutācija

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a); maisījums 1:1
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 2% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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 pārklājiet 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 svaigā barotne.
<b>Seeding density</b>	0,6–1,2 x 10 <sup>4</sup> šūnas/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 reizes nedēļā

**KYSE520 šūnas | 305449****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.

**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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**

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

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## KYSE520 šūnas | 305449

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

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

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