

KYSE-30 šūnas | 305094

Vispārīga informācija

Description

KYSE-30 ir labi diferencēta cilvēka barības vada plakanšūnu karcinomas (ESCC) šūnu līnija, kas iegūta no primārā audzēja pieaugušam pacientam. Šī šūnu līnija ir daļa no KYSE sērijas un tika izveidota barības vada vēža molekulāro un šūnu īpašību izpētei. KYSE-30 šūnas izceļas ar strauju proliferāciju - to dubultošanās laiks ir 20,8 stundas, kas padara tās par stabilu in vitro vēža pētījumu modeli. Šīs šūnas aug pārsvarā kā saauguši monoslāņi, kam raksturīga daudzstūra forma un viendabīgs izskats fāzu kontrasta mikroskopijā. To augšanas modelis ir tipisks epitēlija izcelsmes vēža šūnām, veidojot blīvi saspīestas kolonijas ar tendenci veidoties neorganizēti, atspoguļojot audzēja, no kura tās tika iegūtas, invazīvo raksturu.

No ģenētiskā viedokļa KYSE-30 ir nozīmīgs ar izmaiņām galvenajos audzēju nomācošajos gēnos. Šai šūnu līnijai piemīt p16 (INK4a) un p15 (INK4b) gēnu savvaļas tipa konfigurācija, bet p16 gēnā ir ievērojama punktveida mutācija, kas izraisa priekšlaicīgu stopkodonu, kā rezultātā rodas saīsināts, nefunkcionāls proteīns. Šī mutācija, iespējams, veicina šūnu cikla kontroles zudumu, veicinot vēža šūnām raksturīgo nekontrolēto proliferāciju. Tomēr p15 gēna savvaļas tipa saglabāšana liecina, ka p16 gēna izmaiņām ir svarīgāka loma KYSE-30 onkoģenēzē, un tas var būt svarīgi pētījumos, kuros uzmanība tiek pievērsta šo gēnu atšķirīgajai lomai vēža attīstībā.

KYSE-30 ir tumorogēns, par ko liecina tā spēja veidot audzējus, injicējot to atimiskām nude pelēm, tādējādi tas ir lielisks modelis in vivo pētījumiem par ESCC. Ar KYSE-30 šūnām izveidoto audzēju histoloģiskā izmeklēšana uzrāda īpašības, kas ir līdzīgas sākotnējai plakanšūnu karcinomai, tādējādi nodrošinot precīzu slimības atveidi. Šī šūnu līnija ir nenovērtējama audzēju rašanās mehānismu, barības vada vēzi noteicošo ģenētisko un epigenētisko izmaiņu un mērķterapijas izstrādē, lai gan tā nav piemērota terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Barības vada plakanšūnu epitēlijs

Disease

Barības vada plakanšūnu karcinoma

Synonyms

Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, KYSE30, KYSE30, KYSE0030

Raksturojums

Age

64 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Āzijas

Morphology

Epitēlijveidīgs, ar garu pseidopodu

Growth properties

Adherent

KYSE-30 šūnas | 305094

Normatīvie dati

Citation	KYSE-30 (Cytion kataloga numurs 305094)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1351

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	Lūdzu, sajauciet Hama F12 un RPMI 1640 proporcijā 50:50 (Cytion izstrādājumu numuri 820600a un 820702a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 līdz 30 stundas
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 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 svaiga barotne.
Fluid renewal	2 līdz 3 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.

KYSE-30 šūnas | 305094

**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% 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 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KYSE-30 šūnas | 305094

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