

Komórki KYSE520 | 305449

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa KYSE520 to model ludzkiego raka płaskonabłonkowego przełyku (ESCC) pochodzący z guza pierwotnego. Jest ona umiarkowanie zróżnicowana i odegrała kluczową rolę w badaniu plastyczności nabłonkowo-mezenchymalnej (EMP) w raku przełyku. Komórki KYSE520 wykazują heterogenność, składając się zarówno z subpopulacji nabłonkowych (CD44v+), jak i mezenchymalnych (CD44v-). Te dwie populacje są zdolne do interkonwersji, odzwierciedlając dynamiczny proces EMP. Ta właściwość sprawia, że KYSE520 jest doskonałym modelem do badania cech nowotworowych komórek macierzystych i mechanizmów chemiooporności w ESCC.

Pod względem genetycznym komórki KYSE520 wykazują znaczącą regulację epigenetyczną. Region promotora genu JAM3, supresora nowotworu, jest w tych komórkach niemetylowany, co umożliwia jego ekspresję. JAM3 odgrywa rolę w regulacji proliferacji komórek, migracji i inwazji poprzez sygnalizację Wnt/ β -kateniny. Utrzymanie ekspresji JAM3 w KYSE520 zostało powiązane z tłumieniem agresywnych fenotypów raka.

W badaniach terapeutycznych komórki KYSE520 zostały wykorzystane do zbadania roli receptora czynnika wzrostu fibroblastów podobnego do 1 (FGFRL1). Badania wykazały, że komórki KYSE520 pozbawione FGFRL1 wykazują zmniejszony wzrost i ruchliwość guza, wraz ze spadkiem ekspresji metaloproteinazy macierzy-1 (MMP-1) i białka wiążącego czynnik wzrostu fibroblastów 1 (FGFBP1). Odkrycia te podkreślają znaczenie FGFRL1 w procesie nowotworzenia i sugerują potencjalne cele terapeutyczne. Dodatkowo, dynamika EMP i powiązane szlaki molekularne w komórkach KYSE520 zapewniają wgląd w progresję ESCC i mechanizmy oporności, przyczyniając się do rozwoju ukierunkowanych terapii.

Organism Człowiek

Tissue Przełyk

Disease Rak płaskonabłonkowy

Synonyms KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520

Charakterystyka

Age 58 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Japoński

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Przylegający, jednowarstwowy

Komórki KYSE520 | 305449

Dane regulacyjne

Citation	KYSE520 (numer katalogowy Cytion 305449)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1355

Dane biomolekularne

Oncogenes	TP53, MYC
Mutational profile	Mutacja: TP53, c.376-2A>T, mutacja akceptora splicingu

Obsługa

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a); mieszanina 1:1
Supplements	Uzupełnić podłoże 2% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Stosunek 1:6 do 1:8 jest zalecany dla rutynowych hodowli.
Seeding density	0,6–1,2 × 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	2 razy w tygodniu

Komórki KYSE520 | 305449**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki KYSE520 | 305449

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.