

**Komórki KYSE-30 | 305094****Informacje ogólne****Description**

KYSE-30 to dobrze zróżnicowana ludzka linia komórkowa raka płaskonabłonkowego przełyku (ESCC) pochodząca z guza pierwotnego u dorosłego pacjenta. Jako część serii KYSE, ta linia komórkowa została utworzona w celu badania molekularnych i komórkowych cech raka przełyku. Komórki KYSE-30 wyróżniają się szybką proliferacją, z czasem podwojenia wynoszącym 20,8 godziny, co czyni je solidnym modelem do badań nad rakiem in vitro. Komórki te rosną głównie jako przylegające monowarstwy, wykazując charakterystyczny wielokątny kształt i jednolity wygląd pod mikroskopem fazowo-kontrastowym. Ich wzór wzrostu jest typowy dla komórek nowotworowych pochodzących z nabłonka, tworząc ciasno upakowane kolonie z tendencją do gromadzenia się w nieuporządkowany sposób, odzwierciedlając inwazyjną naturę guza, z którego pochodzą.

Genetycznie, KYSE-30 jest istotna ze względu na zmiany w kluczowych genach supresorowych nowotworu. Linia komórkowa wykazuje konfigurację typu dzikiego dla genów p16 (INK4a) i p15 (INK4b), ale jest nosicielem znaczącej mutacji punktowej w genie p16, która skutkuje przedwczesnym kodonem stop, prowadząc do skróconego, niefunkcjonalnego białka. Mutacja ta prawdopodobnie przyczynia się do utraty kontroli cyklu komórkowego, promując niekontrolowaną proliferację charakterystyczną dla komórek nowotworowych. Zachowanie genu p15 typu dzikiego sugeruje jednak, że zmiany w genie p16 odgrywają bardziej krytyczną rolę w onkogenezie KYSE-30, co może mieć znaczenie w badaniach skupiających się na zróżnicowanej roli tych genów w nowotworach.

KYSE-30 jest nowotworotwórczy, o czym świadczy jego zdolność do tworzenia guzów po wstrzyknięciu do atymicznych nagich myszy, co czyni go doskonałym modelem do badań in vivo nad ESCC. Badanie histologiczne guzów utworzonych przez komórki KYSE-30 wykazuje cechy podobne do pierwotnego raka płaskonabłonkowego, zapewniając wierne odwzorowanie choroby. Ta linia komórkowa jest nieoceniona w badaniach nad mechanizmami nowotworzenia, zmianami genetycznymi i epigenetycznymi powodującymi raka przełyku oraz rozwojem terapii celowanych, choć nie nadaje się do zastosowań terapeutycznych lub in vivo.

**Organism** Człowiek**Tissue** Nabłonek płaskonabłonkowy przełyku**Disease** Rak płaskonabłonkowy przełyku**Synonyms** Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030**Charakterystyka****Age** 64 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Azjatycki**Morphology** Podobny do nabłonka, z długim pseudopodem

**Komórki KYSE-30 | 305094**

<b>Growth properties</b>	Adherent
--------------------------	----------

**Dane regulacyjne**

<b>Citation</b>	KYSE-30 (numer katalogowy Cytion 305094)
-----------------	--

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1351
-----------------------------	-----------

**Dane biomolekularne****Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	Należy zmieszać F12 Ham'a i RPMI 1640 w stosunku 50:50 (numery artykułów Cytion 820600a i 820702a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Doubling time</b>	20 do 30 godzin
----------------------	-----------------

<b>Subculturing</b>	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.
---------------------	---

<b>Split ratio</b>	1: 3 do 1: 5
--------------------	--------------

<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

<b>Freeze medium</b>	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.
----------------------	---

## Komórki KYSE-30 | 305094

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 probówki 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 zawieszonych, 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

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

**Komórki KYSE-30 | 305094****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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczane 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.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10  
**D13S317:** 9  
**D16S539:** 10,12  
**D5S818:** 11  
**D7S820:** 11,11.3  
**TH01:** 9  
**TPOX:** 9  
**vWA:** 16,18,19  
**D3S1358:** 15,16  
**D21S11:** 28  
**D18S51:** 14  
**Penta E:** 13  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 12,15  
**FGA:** 24  
**D6S1043:** 11,20  
**D2S1338:** 23  
**D12S391:** 17,19  
**D19S433:** 14.2,15.2