

Células KYSE-30 | 305094**Informações gerais****Description**

A KYSE-30 é uma linha celular de carcinoma de células escamosas do esófago humano bem diferenciado (ESCC) derivada de um tumor primário de um doente adulto. Como parte da série KYSE, esta linha celular foi criada para estudar as características moleculares e celulares do cancro do esófago. As células KYSE-30 distinguem-se pela sua rápida proliferação, com um tempo de duplicação de 20,8 horas, o que as torna um modelo robusto para a investigação in vitro do cancro. Estas células crescem predominantemente como monocamadas aderentes, apresentando uma forma poligonal característica e um aspeto uniforme sob microscopia de contraste de fase. O seu padrão de crescimento é típico das células cancerígenas derivadas do epitélio, formando colónias bem compactadas com uma tendência para se amontoarem de forma desorganizada, reflectindo a natureza invasiva do tumor de que derivam.

Geneticamente, a KYSE-30 é significativa pelas suas alterações em genes supressores de tumores chave. A linha de células apresenta uma configuração de tipo selvagem para os genes p16 (INK4a) e p15 (INK4b), mas é portadora de uma notável mutação pontual no gene p16 que resulta num códon de paragem prematuro, conduzindo a uma proteína truncada e não funcional. Esta mutação contribui provavelmente para a perda do controlo do ciclo celular, promovendo a proliferação descontrolada característica das células cancerígenas. A retenção do gene p15 de tipo selvagem, no entanto, sugere que as alterações do gene p16 desempenham um papel mais crítico na oncogénese do KYSE-30, o que pode ser relevante em estudos centrados nos papéis diferenciais destes genes no cancro.

O KYSE-30 é tumorigénico, como demonstrado pela sua capacidade de formar tumores quando injetado em ratinhos nude atímicos, o que o torna um excelente modelo para estudos in vivo de ESCC. O exame histológico dos tumores formados pelas células KYSE-30 apresenta características semelhantes às do carcinoma espinocelular original, constituindo uma representação fiel da doença. Esta linha celular é de valor inestimável para a investigação dos mecanismos de tumorigénese, das alterações genéticas e epigenéticas que determinam o cancro do esófago e para o desenvolvimento de terapias orientadas, embora não seja adequada para aplicações terapêuticas ou in vivo.

Organism Humano**Tissue** Epitélio escamoso do esófago**Disease** Carcinoma de células escamosas do esófago**Synonyms** Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030**Caraterísticas****Age** 64 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Asiático

Células KYSE-30 | 305094**Morphology** De tipo epitelial, com pseudópodes longos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** KYSE-30 (número de catálogo Cytion 305094)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1351**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** Misturar Ham's F12 e RPMI 1640 numa proporção de 50:50 (números de artigo Cytion 820600a e 820702a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 a 30 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1: 3 a 1: 5**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Células KYSE-30 | 305094

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Células KYSE-30 | 305094

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil 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: 11,2
D2S1338: 23
D12S391: 17,19
D19S433: 14.2,15.2