

Bunky KYSE520 | 305449**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia KYSE520 je model ľudského skvamózneho karcinómu pažeráka (ESCC) odvodený z primárneho nádoru. Je stredne diferencovaná a bola užitočná pri skúmaní epitelovo-mezenchymálnej plasticity (EMP) pri rakovine pažeráka. Bunky KYSE520 vykazujú heterogenitu a pozostávajú z epiteliálnych (CD44v+) aj mezenchymálnych (CD44v-) subpopulácií. Tieto dve populácie sú schopné vzájomnej konverzie, čo odráža dynamický proces EMP. Vďaka tejto vlastnosti je KYSE520 vynikajúcim modelom na štúdium vlastností nádorových kmeňových buniek a mechanizmov chemorezistencie v ESCC.

Z genetického hľadiska vykazujú bunky KYSE520 pozoruhodnú epigenetickú reguláciu. Promótorová oblasť génu JAM3, nádorového supresora, je v týchto bunkách nemetylovaná, čo umožňuje jeho expresiu. JAM3 zohráva úlohu pri regulácii bunkovej proliferácie, migrácie a invázie prostredníctvom signalizácie Wnt/ β -katenínu. Zachovanie expresie JAM3 v KYSE520 sa spája s potlačením agresívnych fenotypov rakoviny.

V terapeutickom výskume sa bunky KYSE520 použili na skúmanie úlohy receptora podobného fibroblastovému rastovému faktoru 1 (FGFRL1). Štúdie ukázali, že bunky KYSE520 s deficitom FGFRL1 vykazujú znížený rast a pohyblivosť nádorov spolu s poklesom expresie matrixovej metaloproteinázy-1 (MMP-1) a proteínu viažuceho fibroblastový rastový faktor 1 (FGFBP1). Tieto zistenia zdôrazňujú význam FGFRL1 v nádorovom bujení a naznačujú potenciálne terapeutické ciele. Okrem toho dynamika EMP a súvisiace molekulárne dráhy v bunkách KYSE520 poskytujú pohľad na progresiu ESCC a mechanizmy rezistencie, čo prispieva k vývoju cielenej liečby.

Organism Ľudské**Tissue** Pažerák**Disease** Spinocelulárny karcinóm**Synonyms** KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520**Charakteristika****Age** 58 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Japonský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Priľnavé, jednovrstvové**Regulačné údaje**

Bunky KYSE520 | 305449

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | KYSE520 (katalógové číslo Cytion 305449) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1355 |

Biomolekulárne údaje

| | |
|---------------------------|--|
| Oncogenes | TP53, MYC |
| Mutational profile | Mutácia: TP53, c.376-2A>T, akceptorová mutácia |

Spracovanie

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a); zmes 1:1 |
| Supplements | Doplňte médium o 2% FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium. |
| Seeding density | 0,6 – 1,2 x 10 ⁴ buniek/cm ² |
| Fluid renewal | 2 krát týždenne |
| Freeze medium | Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryo. |

Bunky KYSE520 | 305449

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky KYSE520 | 305449

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.