

**Bunky KYSE-30 | 305094****Všeobecné informácie****Description**

KYSE-30 je dobre diferencovaná ľudská bunková línia skvamózneho karcinómu pažeráka (ESCC) odvodená z primárneho nádoru u dospelého pacienta. Ako súčasť série KYSE bola táto bunková línia vytvorená na štúdium molekulárnych a bunkových charakteristík rakoviny pažeráka. Bunky KYSE-30 sa vyznačujú rýchlou proliferáciou s časom zdvojnásobenia 20,8 hodiny, čo z nich robí robustný model na výskum rakoviny in vitro. Tieto bunky rastú prevažne ako adherentné monovrstvy, majú charakteristický polygonálny tvar a jednotný vzhľad pri fázovej kontrastnej mikroskopii. Ich rastový model je typický pre epitelové nádorové bunky, ktoré vytvárajú tesné kolónie s tendenciou k neorganizovanému hromadeniu, čo odráža invazívnu povahu nádoru, z ktorého boli odvodené.

Z genetického hľadiska je KYSE-30 významný svojimi zmenami v kľúčových nádorových supresorových génoch. Bunková línia vykazuje divoký typ génov p16 (INK4a) a p15 (INK4b), ale nesie pozoruhodnú bodovú mutáciu v géne p16, ktorá vedie k predčasnému stop kodónu, čo vedie k skráteniu nefunkčného proteínu. Táto mutácia pravdepodobne prispieva k strate kontroly bunkového cyklu a podporuje nekontrolovanú proliferáciu charakteristickú pre rakovinové bunky. Zachovanie divokého typu génu p15 však naznačuje, že zmeny génu p16 zohrávajú v onkogenéze KYSE-30 rozhodujúcejšiu úlohu, čo môže byť dôležité v štúdiách zameraných na rozdielnu úlohu týchto génov v rakovine.

KYSE-30 je tumorogénny, čo dokazuje jeho schopnosť vytvárať nádory po injekčnom podaní atýmovým nahým myšiam, čo z neho robí vynikajúci model pre štúdie ESCC in vivo. Histologické vyšetrenie nádorov vytvorených bunkami KYSE-30 vykazuje vlastnosti podobné pôvodnému skvamocelulárnemu karcinómu, čo poskytuje verné zobrazenie ochorenia. Táto bunková línia je neoceniteľná pre výskum mechanizmov tumorigenézy, genetických a epigenetických zmien, ktoré sú príčinou vzniku rakoviny pažeráka, a pre vývoj cielej terapie, hoci nie je vhodná na terapeutické alebo in vivo aplikácie.

**Organism**      Ľudské**Tissue**              Skvamózny epitel pažeráka**Disease**            Skvamocelulárny karcinóm pažeráka**Synonyms**        Kyse-30, KYSE 30, KYSE30, Kyse30, KYSE0030**Charakteristika****Age**                      64 rokov**Gender**                Muži**Ethnicity**            Ázijské**Morphology**        Epiteloidný, s dlhým pseudopodom

**Bunky KYSE-30 | 305094**

**Growth properties** Adherent

**Regulačné údaje**

**Citation** KYSE-30 (katalógové číslo Cytion 305094)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1351

**Biomolekulárne údaje****Spracovanie**

**Culture Medium** Zmiešajte Ham's F12 a RPMI 1640 v pomere 50:50 (čísla článkov Cytion 820600a a 820702a)

**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 20 až 30 hodín

**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.

**Fluid renewal** 2 až 3-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 kryom.

## Bunky KYSE-30 | 305094

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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 KYSE-30 | 305094**

**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.