

Клітини KYSE180 | 305450

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія KYSE180 — це модель плоскоклітинного раку стравоходу людини (ESCC), отримана з первинної пухлини. Ця клітинна лінія класифікується як помірно диференційована і демонструє низку генетичних змін, характерних для ESCC, зокрема мутації в сигнальному шляху NRF2 (NFE2L2). Зокрема, клітини KYSE180 містять мутацію NRF2 D77V, яка сприяє гіперактивації NRF2 — транскрипційного фактора, що бере участь у реакції на окислювальний стрес та прогресуванні пухлини.

Клітини KYSE180 широко використовуються для вивчення молекулярних механізмів ESCC, зокрема хіміорезистентності та онкогенних сигнальних шляхів. Підвищена активність NRF2 у клітинах KYSE180 пов'язують із резистентністю до хіміотерапії та радіотерапії, оскільки NRF2 посилює антиоксидантний захист клітин та метаболічні адаптації. Нещодавні дослідження дозволили виявити сполуки, такі як піриметамін, що інгібують сигнальний шлях NRF2, що призводить до зниження проліферації та пухлиногенності клітин KYSE180. Такі дослідження підкреслюють терапевтичний потенціал націлювання на NRF2 у ракових захворюваннях з високим рівнем експресії NRF2.

Крім того, клітини KYSE180 використовували для оцінки ролі ферментів сімейства альдо-кеторедуктаз (AKR), зокрема AKR1C1 та AKR1C2, у метаболізмі лікарських засобів та хіміопрофілактиці. Експресія цих ферментів підвищена в клітинах KYSE180, що підвищує чутливість до таких речовин, як етил-3,4-дигідроксibenзоат (EDHB). Ця сполука індукує апоптоз та аутофагію, що демонструє корисність цієї клітинної лінії для дослідження реакцій на лікарські засоби та механізмів клітинного стресу при раку стравоходу (ESCC).

Organism

Людина

Tissue

Стравохід

Disease

Плоскоклітинний рак

Synonyms

KYSE 180, KYSE-180, Kyse180, KY180

Характеристики

Age

53 роки

Gender

Чоловік

Ethnicity

Японський

Morphology

Епітеліальноподібні

Growth properties

Адгезійний, одношаровий

Клітини KYSE180 | 305450

Нормативні дані

Citation	KYSE180 (номер за каталогом Cytion 305450)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1349

Біомолекулярні дані

MSI-status	Стабільний (MSS)
Mutational profile	Мутація: TP53, p.Ile195Thr (c.584T>C), гомозиготна

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	$2-4 \times 10^4 / \text{cm}^2$
Fluid renewal	2 рази на тиждень

Клітини KYSE180 | 305450

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини KYSE180 | 305450

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.