

Клітини KYSE520 | 305449

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія KYSE520 - це модель плоскоклітинної карциноми стравоходу людини, отримана з первинної пухлини. Вона є помірно диференційованою і відіграє важливу роль у дослідженні епітеліально-мезенхімальної пластичності (ЕМП) при раку стравоходу. Клітини KYSE520 демонструють гетерогенність, складаючись як з епітеліоподобних (CD44v+), так і з мезенхімальних (CD44v-) субпопуляцій. Ці дві популяції здатні до взаємоперетворення, що відображає динамічний процес ЕМП. Ця властивість робить KYSE520 чудовою моделлю для вивчення ознак ракових стовбурових клітин і механізмів хіміорезистентності при ЕСКК.

Генетично клітини KYSE520 демонструють помітну епігенетичну регуляцію. Промоторна область гена JAM3, супресора пухлин, у цих клітинах неметильована, що дозволяє його експресію. JAM3 відіграє важливу роль у регуляції проліферації, міграції та інвазії клітин через сигналізацію Wnt/ β -катеніну. Підтримка експресії JAM3 в клітинах KYSE520 пов'язана з пригніченням агресивних фенотипів раку.

У терапевтичних дослідженнях клітини KYSE520 використовували для вивчення ролі рецептора фактора росту фібробластів, подібного до 1 (FGFRL1). Дослідження показали, що клітини KYSE520 з дефіцитом FGFRL1 демонструють знижений ріст і рухливість пухлини, а також зниження експресії матричної металопротеїнази-1 (MMP-1) і білка, що зв'язує фактор росту фібробластів 1 (FGFBP1). Ці дані підкреслюють важливість FGFRL1 в пухлиногенезі та вказують на потенційні терапевтичні мішені. Крім того, динаміка ЕМП і пов'язані з ним молекулярні шляхи в клітинах KYSE520 дають уявлення про механізми прогресування і резистентності ЕСКК, сприяючи розробці таргетних методів лікування.

Organism Людина

Tissue Стравохід

Disease Плоскоклітинний рак

Synonyms KYSE 520, KYSE-520, Kyse520, KYSE0520

Характеристики

Age 58 років

Gender Жінка

Ethnicity Японський

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адгезійний, одношаровий

Клітини KYSE520 | 305449

Нормативні дані

Citation	KYSE520 (номер за каталогом 305449)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1355

Біомолекулярні дані

Oncogenes	TP53, MYC
Mutational profile	Мутація: TP53, с.376-2A>T, мутація акцептора сплайсингу

Обробка

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 мМ стабільного глютаміну, w: 1,0 мМ піривату натрію, w: 1,1 г/л NaHCO ₃ (номер за каталогом 820600a) + RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільного глютаміну, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталогом 820700a); суміш 1:1
Supplements	Додайте до середовища 2% 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	0,6-1,2 × 10 ⁴ клітин/см ²
Fluid renewal	2 рази на тиждень

Клітини KYSE520 | 305449

Freeze medium

Як середовище криоконсервування 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.

Flask Coating

Hi

Клітини KYSE520 | 305449

Freezing Procedure

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 негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

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 негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

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 / Генетичний профіль / HLA

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.