Product sheet

Buňky KPL-4 | 305578

Obecné informace

Description	Buněčná linie KPL-4 je model lidského karcinomu prsu původně odvozený z maligního pleurálního výpotku pacientky se zánětlivým karcinomem prsu. Tato buněčná linie vykazuje nadměrnou expresi a amplifikaci HER2 (ErbB-2) a expresi dalších receptorů rodiny ErbB, včetně HER1 (EGFR) a HER3. Díky těmto vlastnostem je obzvláště vhodná pro studium molekulárních mechanismů, které jsou základem agresivních HER2-pozitivních karcinomů prsu, a pro testování cílených terapií. Buňky KPL-4 jsou vysoce tumorigenní a byly použity k vytvoření xenograftových modelů u imunodeficitních myší. Tyto modely prokázaly, že nádory KPL-4 vylučují značné množství interleukinu-6 (IL-6), což přispívá ke kachexii hostitelských zvířat. Sekrece IL-6 koreluje s nádorovou zátěží, což poukazuje na systémové účinky nádorové biologie u HER2-pozitivních nádorů. Důležité je, že buňky KPL-4 reagují na anti-HER2 terapii, jako je trastuzumab, ačkoli účinnost této léčby in vivo je proměnlivá, což je potenciálně způsobeno agresivní povahou tohoto modelu rakoviny. Tato buněčná linie byla rovněž využita v pokročilém terapeutickém výzkumu. Například fotoaktivující konjugáty protilátek a mimetických léčiv (AMDC) zaměřené na HER2 prokázaly účinnost na xenograftových modelech KPL-4. Tyto terapie kombinují vazebné molekuly specifické pro HER2 s cytotoxickým užitečným zatížením aktivovaným světlem, čímž dosahují významného zmenšení nádoru s minimálními účinky mimo cíl. Tyto studie podtrhují užitečnost buněk KPL-4 při hodnocení nových terapeutických modalit HER2-pozitivního karcinomu prsu.
Organism	Člověk
Tissue	Prsa
Disease	Zánětlivý karcinom prsu
Metastatic site	Pleurální výpotek
Synonyms	KPL4

Charakteristika

Age	52 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Japonský
Morphology	Epitelu podobné

Buňky KPL-4 | 305578

Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	KPL-4 (katalogové číslo Cytion 305578)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5310

Biomolekulární data

MSI-status	Stabilní (MSS)

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem TrypLE Express, a to 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Fluid renewal	2krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky KPL-4 | 305578

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.