Product sheet

KPL-4 rakud | 305578

Üldine teave

Description	KPL-4 rakuliin on inimese rinnavähi mudel, mis on algselt saadud põletikulise rinnavähiga patsiendi pahaloomulisest pleuraefusioonist. Sellel rakuliinil esineb HER2 (ErbB-2) üleekspressioon ja amplifikatsioon, samuti teiste ErbB perekonna retseptorite, sealhulgas HER1 (EGFR) ja HER3 ekspressioon. Selliste omaduste tõttu on see eriti oluline agressiivse HER2-positiivse rinnavähi aluseks olevate molekulaarmehhanismide uurimiseks ja sihtteraapia testimiseks. KPL-4 rakud on väga tumorigeensed ja neid on kasutatud ksenotransplantaadi mudelite loomiseks immuunpuudulikkusega hiirtel. Need mudelid on näidanud, et KPL-4 kasvajad eritavad märkimisväärses koguses interleukiin-6 (IL-6), mis aitab kaasa peremeesloomade kacheksia tekkimisele. IL-6 sekretsioon korreleerub kasvaja koormusega, tuues esile HER2-positiivsete vähkkasvajate süsteemse mõju. Oluline on, et KPL-4 rakud reageerivad HER2-vastastele ravimeetoditele, nagu trastuzumab, kuigi nende ravimeetodite in vivo tõhusus on erinev, mis võib olla tingitud selle vähimudeli agressiivsusest. Seda rakuliini on kasutatud ka edasijõudnud terapeutilistes uuringutes. Näiteks on HER2-le suunatud fotoaktiivsed antikehade-mimeetilised ravimikonjugaadid (AMDC) näidanud tõhusust KPL-4 ksenotransplantaadi mudelites. Need ravimeetodid kombineerivad HER2-spetsiifilisi seonduvaid molekule valguse poolt aktiveeritud tsütotoksiliste toimeainetega, saavutades märkimisväärse kasvaja vähenemise minimaalse sihtmärgivälise mõjuga. Sellised uuringud rõhutavad KPL-4 rakkude kasulikkust HER2-positiivse rinnavähi uute ravimeetodite hindamisel.
Organism	Inimene
Tissue	Rind
Disease	Rinna põletikuline kartsinoom
Metastatic site	Pleuraefusioon
Synonyms	KPL4

Omadused

Age	52 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Jaapani
Morphology	Epiteelilaadsed

KPL-4 rakud | 305578

Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	KPL-4 (Cytioni kataloginumber 305578)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5310

Biomolekulaarsed andmed

MSI-status	Stabiilne (MSS)

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KPL-4 rakud | 305578

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.