

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 kasvajakasv 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 anti-kehad-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 katalooginumber 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 NaHCO ₃ , 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 katalooginumber 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 vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KPL-4 rakud | 305578

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.