Product sheet

KPL-4 šūnas | 305578

Vispārīga informācija

Description	KPL-4 šūnu līnija ir cilvēka krūts vēža modelis, kas sākotnēji tika iegūts no pacienta ar iekaisīgu krūts vēzi ļaundabīga pleiras izplūduma. Šī šūnu līnija uzrāda HER2 (ErbB-2) hiperekspresiju un amplifikāciju, kā arī citu ErbB ģimenes receptoru, tostarp HER1 (EGFR) un HER3, ekspresiju. Šādas īpašības padara to īpaši piemērotu agresīva HER2 pozitīva krūts vēža pamatā esošo molekulāro mehānismu izpētei un mērķterapijas testēšanai. KPL-4 šūnas ir ļoti audzējainas, un tās ir izmantotas, lai izveidotu ksenogrāftu modeļus imūndeficītām pelēm. Šajos modeļos ir pierādīts, ka KPL-4 audzēji izdala ievērojamu daudzumu interleikīna-6 (IL-6), kas veicina saimniekdzīvnieku kaheksiju. IL-6 sekrēcija korelē ar audzēja slodzi, tādējādi uzsverot HER2 pozitīva vēža audzēja bioloģijas sistēmisko ietekmi. Svarīgi, ka KPL-4 šūnas reaģē uz anti HER2 terapiju, piemēram, trastuzumabu, lai gan in vivo šo terapiju efektivitāte ir mainīga, iespējams, šī vēža modeļa agresīvās dabas dēļ. Šī šūnu līnija ir izmantota arī progresīvos terapeitiskos pētījumos. Piemēram, fotoaktivizējoši antivielu imitējoši zāļu konjugāti (AMDC), kas vērsti pret HER2, ir izrādījušies efektīvi KPL-4 ksenografta modeļos. Šīs terapijas apvieno HER2 specifiskas saistvielas molekulas ar citotoksisku slodzi, ko aktivizē gaisma, panākot ievērojamu audzēja samazināšanos ar minimālu blakussaskares efektu. Šādi pētījumi uzsver KPL-4 šūnu lietderību jaunu HER2 pozitīva krūts vēža terapijas metožu novērtēšanā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Krūtis
Disease	Krūts iekaisuma karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	KPL4

Raksturojums

Age	52 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Japāņu
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

KPL-4 šūnas | 305578

Normatīvie dati

Citation	KPL-4 (Cytion kataloga numurs 305578)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5310

Biomolekulārie dati

MSI-status	Stabils (MSS)

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar TrypLE Express, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	2 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

KPL-4 šūnas | 305578

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KPL-4 šūnas | 305578

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.