Product sheet

Komórki KPL-4 | 305578

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa KPL-4 jest ludzkim modelem raka piersi pierwotnie uzyskanym ze złośliwego wysięku opłucnowego pacjentki z zapalnym rakiem piersi. Ta linia komórkowa wykazuje nadekspresję i amplifikację HER2 (ErbB-2), a także ekspresję innych receptorów z rodziny ErbB, w tym HER1 (EGFR) i HER3. Takie cechy sprawiają, że jest on szczególnie przydatny do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw agresywnych HER2-dodatnich raków piersi i testowania terapii celowanych. Komórki KPL-4 są wysoce nowotworowe i zostały wykorzystane do stworzenia modeli ksenoprzeszczepów u myszy z niedoborem odporności. Modele te wykazały, że guzy KPL-4 wydzielają znaczne ilości interleukiny-6 (IL-6), przyczyniając się do kacheksji u zwierząt-gospodarzy. Wydzielanie IL-6 koreluje z ciężarem guza, podkreślając ogólnoustrojowe skutki biologii guza w nowotworach HER2-dodatnich. Co ważne, komórki KPL-4 reagują na terapie anty-HER2, takie jak trastuzumab, chociaż skuteczność tych terapii in vivo jest zmienna, potencjalnie ze względu na agresywny charakter tego modelu raka. Linia komórkowa została również wykorzystana w zaawansowanych badaniach terapeutycznych. Na przykład, fotoaktywujące koniugaty przeciwciał i leków (AMDC) ukierunkowane na HER2 wykazały skuteczność w modelach ksenograftów KPL-4. Terapie te łączą cząsteczki wiążące specyficzne dla HER2 z cytotoksycznymi ładunkami aktywowanymi światłem, osiągając znaczną redukcję guza przy minimalnych efektach poza celem. Takie badania podkreślają użyteczność komórek KPL-4 w ocenie nowych metod terapeutycznych dla HER2-dodatniego raka piersi.
Organism	Człowiek
Tissue	Pierś
Disease	Rak zapalny piersi
Metastatic site	Wysięk opłucnowy
Synonyms	KPL4

Charakterystyka

Age	52 lata
Gender	Kobieta
Ethnicity	Japoński
Morphology	Podobny do nabłonka

Komórki KPL-4 | 305578

Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	KPL-4 (numer katalogowy Cytion 305578)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5310

Dane biomolekularne

MSI-status	Stabilny (MSS)

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki preparatem TrypLE Express, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut w celu ich odłączenia. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Fluid renewal	2 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki KPL-4 | 305578

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki KPL-4 | 305578

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.