

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 terapię 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 NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Usun 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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 fiolkę 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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.