

OriCell®

细胞产品手册

OriCell® KPC

小鼠胰腺癌细胞系

产品货号：M1-1001



We help you discover life

背景介绍

KPC 小鼠品系描述

KPC 小鼠同时携带 K-Ras G12D 和 LSL-Trp53 R172H 两种致病突变，是目前成功建立的一种胰腺导管腺癌模型小鼠，具有很多与人胰腺癌相似的特点，如胰腺内皮细胞瘤形成，强烈的免疫反应。此外，在约 80% 的 KPC 小鼠中体内可以观察到肿瘤的转移，主要在肝脏和肺部组织中，这些部位也是人类胰腺癌常见的转移部位，考虑到个体差异性和环境因素的影响，该模型的发病成瘤情况以实际为准。

KPC 小鼠携带 LSL-KrasG12D、LSL-Trp53R172H 和 Pdx1-Cre 三种基因型，是完美的自发胰腺癌小鼠模型之一，它与人类胰腺癌的关键特征非常相似。KPC 模型可用作胰腺导管腺癌（PDAC）的模型，并且由于该模型体内的肿瘤有转移倾向，因此 KPC 小鼠可用于研究原发性和转移性病变的免疫生物学。

KPC 小鼠构建方式

KPC 小鼠由赛业生物独立研发获得（模型编号：C001308）。通过将 KP 小鼠与 Pdx-Cre 小鼠交配获得。首先将 LSL-K-Ras G12D 小鼠（条件性过表达 K-Ras G12D 突变基因小鼠）与 LSL-Trp53 R172H 小鼠（条件性过表达 Trp53 R172H 突变基因小鼠）杂交，产生基因组中携带但不表达两种致病突变基因的小鼠，即 KP 小鼠。然后将 KP 小鼠与 Pdx-Cre 小鼠（胰腺特异性 Cre 重组酶表达小鼠）杂交以产生 KPC 小鼠，该小鼠在 Pdx 启动子的调控下，通过 Cre 重组酶特异性删除胰腺组织中的 Loxp-Stop-Loxp (LSL) 基因沉默元件，使 K-Ras G12D 和 Trp53 R172H 突变基因选择性的在胰腺组织中表达。K-Ras G12D 突变和 Trp53 R172H 突变使胰腺肿瘤发展更为迅速，同时转移潜力加大。

KPC 新生小鼠胰腺正常，不存在肿瘤细胞，在 8 至 10 周龄时，胰腺内开始出现前体病变或胰腺上皮内瘤变（PanIN），大多数小鼠在 16 周龄时发展出局部侵入性胰腺导管腺癌（PDAC），并伴有密集的促纤维增生反应。肿瘤通常具有中等分化的导管形态，具有广泛的间质结缔组织增生，类似于在人类肿瘤中观察到的最常见形态。

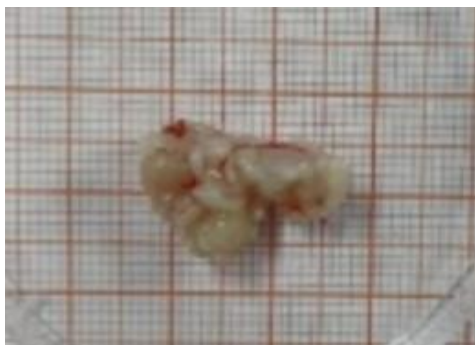


图 1.18 周龄 KPC 小鼠胰腺肿瘤形态

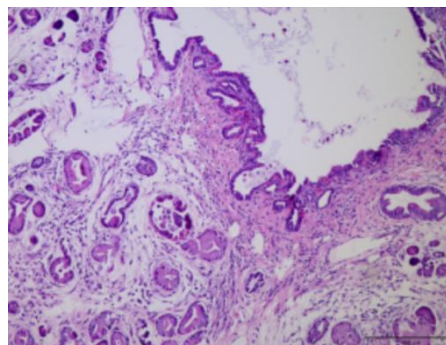


图 2. KPC 小鼠胰腺肿瘤组织 HE 染色图

KPC 小鼠细胞系构建方式

1. 将获得的 KPC 模型鼠 CO₂ 窒息处死，用 75% 的酒精浸泡消毒 3~4 min ；
2. 无菌条件下，使用干净的眼科镊和眼科剪打开小鼠腹腔，小心地将胰腺从周围组织中分离出来；
3. 将提取的胰腺放入无菌生理盐水或 PBS 中，轻轻清洗以去除血液和其他杂质；
4. 将清洗后的胰腺放入预冷的 PBS 无菌培养皿中，使用眼科剪将其切割成小块；
5. 加入 I 型胶原酶在 37°C 下轻轻摇动消化约 15~30 min；
6. 将消化后的混合物通过细胞筛过滤，以去除未消化的组织块，直至轻松通过枪头；
7. 过滤后的细胞悬液转移到离心管中，以 250×g 的速度离心 4 min，细胞重悬接种；
8. 观察培养，细胞经过纯化培养后于液氮保存。

产品介绍

研究应用

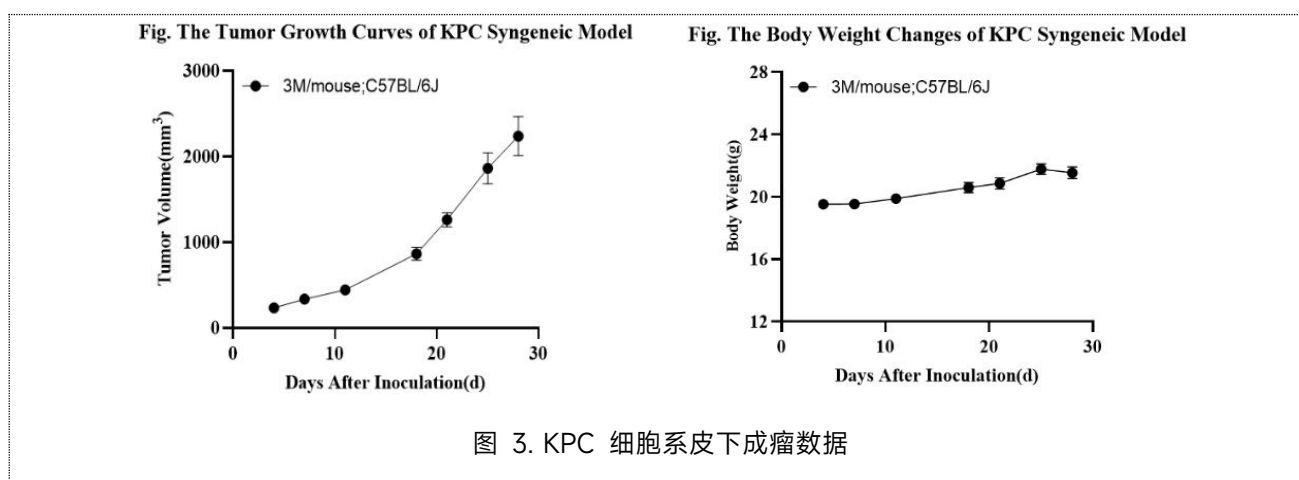
KPC 模型鼠可用于胰腺导管腺癌 (PDAC) 和结直肠癌发生和转移机制研究, 胰腺导管腺癌 (PDAC) 和结直肠癌治疗药物筛选、研发和评价; 其它 KRAS G12D 或 Trp53 R172H 相关肿瘤研究。

由赛业 OriCell®团队经原代取材获得的 KPC 小鼠胰腺癌细胞可用于研究和厚朴酚通过 SMAD2/3 通路抑制胰腺癌 KPC 小鼠肿瘤生长及其原代细胞的侵袭和迁移; 胰腺癌发生和发展机制研究; 药物筛选和治疗研究; 基因功能和转移机制等研究。

注意: 本产品仅提供给进一步科研使用, 不可用于临床治疗等其他用途。

KPC 小鼠胰腺癌细胞成瘤数据

小鼠胰腺癌细胞 KPC 皮下移植肿瘤及体重生长曲线 (n=12)。将细胞以皮下注射的形式接种到 7 周的 C57BL/6J 小鼠体内, 并在不同的时间点测量成瘤体积。细胞接种量为 3×10^6 /只, 数据以 Mean±SEM 形式呈现, 结果显示 KPC 在 C57BL/6J 小鼠上容易建模。肿瘤体积预计在接种后 4 天达到 $100 \sim 200 \text{mm}^3$, 在接种后 28 天达到 2000mm^3 实验终点, 给药窗口期预计在 24 天左右。

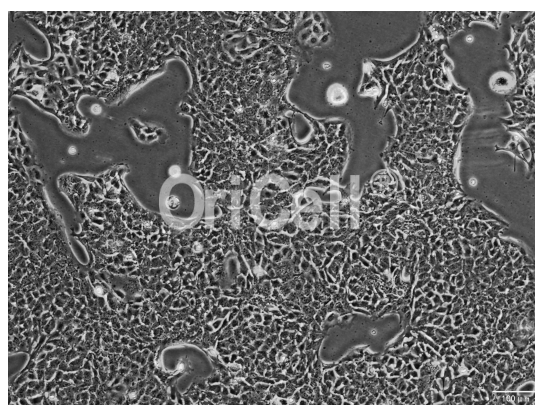
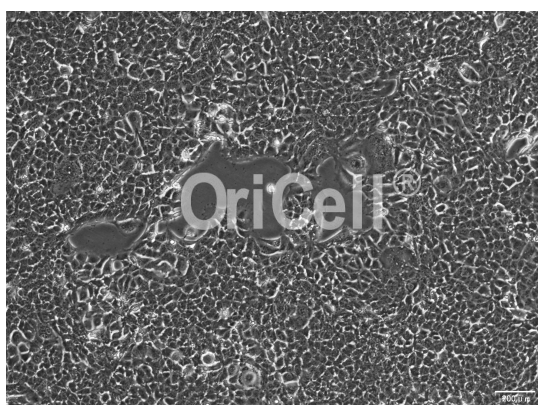


产品信息

产品名称	小鼠胰腺癌细胞系
简称	KPC
货号	M1-1001
规格	1×10 ⁶ 个/管 或 1×10 ⁶ 个/瓶
组织来源	小鼠胰腺
细胞特性	贴壁生长；上皮细胞样
培养条件	95% 空气；5%CO ₂ ；37℃
培养基	DMEM+10%FBS
倍增时间	24~48 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮 (-196℃)
注意事项	——

注意： 本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

OriCell® KPC 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

简写	名称	货号
FBS	Fetal Bovine Serum 胎牛血清	参考官网信息
BCS	Bovine Calf Serum 小牛血清	SBCST-01001
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	SGLU-10201
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	SCSP-10301
Dex	Dexamethasone 地塞米松	SDEX-10401
NBCS	Newborn Calf Serum 新生牛血清	NCSST-01001
HS	Horse Serum 马血清	SCHST-01001
NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	NEAA-10201
β-mer	β-mercaptoethanol β-巯基乙醇	BMER-10301
P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）	ATPS-10001
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物	ITSS-10201

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® KPC 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

操作步骤

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

注意：若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。

13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® KPC 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管

注意：1) 收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；

2) 检查培养基是否浑浊；

3) 瓶身有无裂痕；

4) 瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况，请及时与我们联系。

操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查细胞是否出现大面积脱落，或大量死细胞。
4. 若一切正常，请将细胞培养瓶放入 CO₂ 培养箱内，静置至少 2 h，使运输过程中震动脱落的细胞重新贴壁。
5. 从培养箱中取出细胞，镜下检查有无异常。
6. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，吸取至少 2 份 1 mL 培养基至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

注意：留样的细胞培养基请放置 4℃冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。

7. 弃去多余的培养基，1 个 T25 培养瓶中保留 10 mL 培养基即可。
8. 将细胞放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
9. 每 3 天更换一次新鲜的培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
 2. 吸去培养容器中的培养基。
 3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面。吸去 PBS。
 4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证充分接触细胞表面。
 5. 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80%细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面。
 6. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化。
 7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来。
- 注意:** 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 否则可能损伤和损失细胞。
8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
 9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
 10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
 11. 将细胞按(2~3) ×10⁴ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意: 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® KPC 细胞传代比例为 1:3~1:4, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
13. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞, 应予以换液。
14. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞汇合度至 95%以上, 即需传代或冻存。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液 (货号: NCPF-10001)
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液 (货号: NCRC-10001)

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度, 即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® KPC 细胞的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清, 用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意: 在没有成熟的计数条件下, 我们建议将细胞按比例分装冻存即可, 长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时, 我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内, 以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell® 非程序冻存液, 可将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。

注意: 细胞冻存期间, 特别是开始冻存的 4 h 内, 不可打开冰箱门, 这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意: 细胞不可长期保存在 -80°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业 (广州) 生物科技有限公司保留 OriCell® 细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业 (广州) 生物科技有限公司的书面许可, 本文件的任何部分,

不得改编或转载用作其他商业用途。