

Клетки KLE | 305051

Обща информация

Description

Клетъчната линия KLE е адхерентна клетъчна линия, получена от ендометриума на пациентка от бялата раса с аденокарцином. Тази клетъчна линия е създадена от 64-дневна пациентка и оттогава се е превърнала в жизненоважен инструмент в изследванията на рака на ендометриума. Клетките KLE са депозирани от GR Richardson и са известни с туморогенните си свойства, тъй като образуват тумори в рамките на 21 дни със 100% честота при подкожно инокулиране в голи мишки. Тези тумори не образуват жлези, но показват микровили, съединителни комплекси и ядрени канални системи, подобни на тези, открити в нормалния ендометриум при прогестационна стимулация.

Клетките KLE изразяват кръвна група O и са Rh-позитивни, което може да бъде от значение за специфични изследвания, включващи експресия на антигени. Клетъчната линия обикновено се използва за изучаване на патофизиологията на ендометриалния карцином, като особен интерес представлява нейният естроген-рецептор-негативен и прогестерон-рецептор-положителен статус. Този рецепторен профил прави KLE клетките изключително подходящи за изследвания на ролята на прогестерона в прогресията на ендометриалния рак. Проучванията с електронна микроскопия на тумори, получени от KLE клетки, предоставиха подробна информация за клетъчната ултраструктура, което прави тази клетъчна линия основен ресурс за разбиране на морфологичните аспекти на ендометриалния аденокарцином.

Organism Човек

Tissue Матка, ендометриум

Disease Аденокарцином на ендометриума

Характеристики

Age 64 години

Gender Жена

Ethnicity Европейски

Morphology Епителиален

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation KLE (каталожен номер 305051 на Cytion)

Клетки KLE | 305051

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1329

Биомолекулярни данни

Antigen expression Кръвна група O, Rh+

Tumorigenic Да, тумори се развиха в рамките на 21 дни със 100% честота (5/5) при голи мишки, на които бяха инжектирани подкожно 1×10^7 клетки.

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 114 часа

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки KLE | 305051

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки KLE | 305051

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.