

KLE rakud | 305051

Üldine teave

Description

KLE rakuliin on valge naissoost patsiendi adenokartsinoomiga endomeetriumi saadud adherentne rakuliin. See rakuliin loodi 64 päeva vanuselt patsiendilt ja sellest on saanud oluline vahend endomeetriumi vähi uurimisel. KLE rakud deponeeris GR Richardson ja need on tuntud oma tumorigeensete omaduste poolest, kuna nad moodustavad 21 päeva jooksul 100% sagedusega kasvajaid, kui neid süstitakse subkutaanselt alasti hiirtele. Need kasvajakud ei moodusta näärmeid, kuid neil on mikrovillid, ühenduskompleksid ja tuumakanalite süsteemid, mis on sarnased normaalses endomeetriumis esinevate süsteemidega progestageense stimulatsiooni korral.

KLE rakud ekspresseerivad veregruppi O ja on Rh-positiivsed, mis võib olla oluline antigeeni ekspressiooniga seotud spetsiifilistes uuringutes. Seda rakuliini kasutatakse tavaliselt endomeetriumi kartsinoomi patofüsioloogia uurimiseks, kusjuures erilist huvi pakub selle östrogeenireseptor-negatiivne ja progesteronireseptor-positiivne staatus. See retseptoriprofiil muudab KLE rakud väga sobivaks progesteroni rolli uurimiseks endomeetriumi vähi progresseerumisel. KLE rakkudest saadud kasvajakute elektronmikroskoopilised uuringud on andnud üksikasjaliku ülevaate raku ultrastruktuurist, mis muudab selle rakuliini oluliseks ressursiks endomeetriumi adenokartsinoomi morfoloogiliste aspektide mõistmiseks.

Organism Inimene

Tissue Emakas, emakas, endomeetrium

Disease Endomeetriumi adenokartsinoom

Omadused

Age 64 aastat

Gender Naised

Ethnicity Euroopa

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation KLE (Cytioni katalooginumber 305051)

Biosafety level 1

KLE rakud | 305051

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1329

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression Veregrupp O, Rh+

Tumorigenic Jah, kasvavad tekkisid 21 päeva jooksul 100% sagedusega (5/5) alasti hiirtel, kellele süstiti naha alla 1×10^7 rakku.

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 114 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KLE rakud | 305051

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KLE rakud | 305051

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.