

KLE-solut | 305051

Yleisiä tietoja

Description

KLE-solulinja on tarttuva solulinja, joka on peräisin valkoihoisen naispotilaan, jolla on adenokarsinooma, kohdun limakalvosta. Tämä solulinja perustettiin 64 päivää vanhasta potilaasta, ja siitä on sittemmin tullut tärkeä väline kohdun limakalvosyövän tutkimuksessa. KLE-solut ovat GR Richardsonin tallettamia, ja ne ovat tunnettuja tuumorigeenisistä ominaisuuksistaan, sillä ne muodostavat kasvaimia 21 päivän kuluessa 100-prosenttisella taajuudella, kun ne inokuloidaan ihon alle alastomiin hiiriin. Nämä kasvaimet eivät muodosta rauhasia, mutta niissä on mikrovilloja, liitoskomplekseja ja ydinkanavajärjestelmiä, jotka ovat samanlaisia kuin normaalissa kohdun limakalvossa progestageenin stimuloimana.

KLE-solut ilmentävät veriryhmää O ja ovat Rh-positiivisia, mikä voi olla merkityksellistä antigeenien ilmentymistä koskevissa erityistutkimuksissa. Solulinjaa käytetään yleisesti endometriumien karsinooman patofysiologian tutkimiseen, ja erityisen kiinnostavaa on sen estrogeenireseptorinegatiivinen ja progesteronireseptoriposiitiivinen asema. Tämän reseptoriprofiilin ansiosta KLE-solut soveltuvat erinomaisesti tutkimukseen, jossa tutkitaan progesteronin roolia endometriumsyövän etenemisessä. KLE-soluista peräisin olevien kasvainten elektronimikroskopiatutkimukset ovat antaneet yksityiskohtaista tietoa solujen ultrastruktuurista, minkä vuoksi tämä solulinja on tärkeä resurssi endometriumien adenokarsinooman morfologisten näkökohtien ymmärtämisessä.

Organism Ihminen

Tissue Kohdun, kohdun limakalvo

Disease Endometriumien adenokarsinooma

Ominaisuudet

Age 64 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Eurooppalainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation KLE (Cytionin luettelonumero 305051)

KLE-solut | 305051

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1329**Biomolekyylitiedot****Antigen expression** Veriryhmä O, Rh+**Tumorigenic** Kyllä, kasvaimia kehittyi 21 päivän kuluessa 100 %:n tiheydellä (5/5) alastomilla hiirillä, joille oli annettu ihonalaisesti 1×10^7 solua.**Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 114 tuntia**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

KLE-solut | 305051

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KLE-solut | 305051

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.