

KLE šūnas | 305051

Vispārīga informācija

Description

KLE šūnu līnija ir adherentu šūnu līnija, kas iegūta no baltās sievietes, pacientes ar adenokarcinomu, endometrija. Šī šūnu līnija tika izveidota no 64 dienas vecas pacientes, un kopš tā laika ir kļuvusi par būtisku instrumentu endometrija vēža pētniecībā. KLE šūnas deponēja GR Richardson, un tās ir pazīstamas ar savām tumorigēnajām īpašībām, jo 21 dienas laikā tās veido audzējus ar 100 % biežumu, ja tās subkutāni inokulē kailām pelēm. Šie audzēji neveido dziedzerus, bet tiem ir mikrovilas, savienojuma kompleksi un kodolu kanālu sistēmas, kas ir līdzīgas tām, kuras atrodamas normālā endometrijā progestācijas stimulācijas ietekmē.

KLE šūnas izsaka O asinsgrupu un ir Rh pozitīvas, kas var būt svarīgi specifiskiem pētījumiem, kas saistīti ar antigēnu ekspresiju. Šūnu līniju parasti izmanto, lai pētītu endometrija karcinomas patofizioloģiju, īpašu uzmanību pievēršot tās estrogēnu receptoru negatīvajam un progesterona receptoru pozitīvajam statusam. Šis receptoru profils padara KLE šūnas ļoti piemērotas pētījumiem par progesterona lomu endometrija vēža progresēšanā. Elektronmikroskopijas pētījumi ar KLE šūnu audzējiem ir ļāvuši iegūt detalizētu ieskatu šūnu ultrastruktūrā, padarot šo šūnu līniju par būtisku resursu, lai izprastu endometrija adenokarcinomas morfoloģiskos aspektus.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemde, endometrijs

Disease

Endometrija adenokarcinoms

Raksturojums

Age

64 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Eiropas

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

KLE (Cytion kataloga numurs 305051)

Biosafety level

1

KLE šūnas | 305051

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1329

Biomolekulārie dati

Antigen expression O asinsgrupa, Rh+

Tumorigenic Jā, audzēji attīstījās 21 dienu laikā ar 100 % biežumu (5/5) kailām pelēm, kurām subkutāni tika ievadītas 1×10^7 šūnas.

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 114 stundas

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 2 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

KLE šūnas | 305051

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KLE šūnas | 305051

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.