

KLE-celler | 305051

Generell informasjon

Description

KLE-cellelinjen er en adherent cellelinje som stammer fra endometriet til en hvit, kvinnelig pasient med adenokarsinom. Denne cellelinjen ble etablert fra en 64 dager gammel pasient, og har siden blitt et viktig verktøy i forskning på endometriecancer. KLE-cellene ble deponert av GR Richardson og er kjent for sine tumorigeniske egenskaper, ettersom de danner svulster i løpet av 21 dager med 100 % frekvens når de inokuleres subkutant i nakne mus. Disse svulstene danner ikke kjertler, men har mikrovilli, junksjonskomplekser og nukleolære kanalsystemer som ligner dem man finner i normalt endometrium under gestagenstimulering.

KLE-celler uttrykker blodtype O og er Rh-positive, noe som kan være relevant for spesifikke studier som involverer antigenuttrykk. Cellelinjen brukes ofte til å studere patofysiologien til endometriecancer, og det er spesielt interessant at den er østrogenreseptor-negativ og progesteronreseptor-positiv. Denne reseptorprofilen gjør KLE-cellene svært godt egnet for forskning på progesterons rolle i utviklingen av endometriecancer. Elektronmikroskopistudier av KLE-celleavlede svulster har gitt detaljert innsikt i den cellulære ultrastrukturen, noe som gjør denne cellelinjen til en viktig ressurs for å forstå de morfologiske aspektene ved endometrieadenokarsinom.

Organism

Menneskelig

Tissue

Livmor, livmorlimhinne

Disease

Endometrieadenokarsinom

Kjennetegn

Age

64 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Europeisk

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

KLE (Cytion katalognummer 305051)

Biosafety level

1

KLE-celler | 305051

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1329

Biomolekylære data

Antigen expression Blodtype O, Rh+

Tumorigenic Ja, svulster utviklet seg innen 21 dager med 100 % frekvens (5/5) hos nakne mus som ble podet subkutan med 1×10^7 celler.

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 114 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1: 2 til 1: 4

Fluid renewal 2 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

KLE-celler | 305051

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

KLE-celler | 305051

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 13,14
D13S317: 12
D16S539: 11,12
D5S818: 9,12
D7S820: 11,12
TH01: 6,7
TPOX: 8,11
vWA: 16
D3S1358: 17
D21S11: 28,30
D18S51: 13,17
Penta E: 7
Penta D: 13
D8S1179: 8,14
FGA: 23,25
D1S1656: 15.3
D6S1043: 15.3
D2S1338: 18,19
D12S391: 20,25
D19S433: 15