

Células KLE | 305051**Informações gerais****Description**

A linha celular KLE é uma linha celular aderente derivada do endométrio de uma doente branca, do sexo feminino, com adenocarcinoma. Esta linha celular foi estabelecida a partir de uma doente com 64 dias de idade e, desde então, tornou-se uma ferramenta vital na investigação do cancro do endométrio. As células KLE foram depositadas por GR Richardson e são conhecidas pelas suas propriedades tumorigénicas, uma vez que formam tumores em 21 dias com uma frequência de 100% quando inoculadas por via subcutânea em ratinhos nus. Estes tumores não formam glândulas, mas exibem microvilosidades, complexos juncionais e sistemas de canais nucleolares semelhantes aos encontrados no endométrio normal sob estimulação progesteronal.

As células KLE expressam o tipo de sangue O e são Rh-positivas, o que pode ser relevante para estudos específicos que envolvam a expressão de antígenos. A linha celular é habitualmente utilizada para estudar a fisiopatologia do carcinoma do endométrio, com especial interesse no seu estatuto de recetor de estrogénio negativo e recetor de progesterona positivo. Este perfil de receptores torna as células KLE muito adequadas para a investigação do papel da progesterona na progressão do cancro do endométrio. Estudos de microscopia eletrónica de tumores derivados de células KLE forneceram informações detalhadas sobre a ultra-estrutura celular, tornando esta linha celular um recurso essencial para a compreensão dos aspectos morfológicos do adenocarcinoma do endométrio.

Organism

Humano

Tissue

Útero, Endométrio

Disease

Adenocarcinoma do endométrio

Caraterísticas**Age**

64 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Europeu

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

KLE (número de catálogo Cytion 305051)

Células KLE | 305051

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1329**Dados biomoleculares****Antigen expression** Tipo de sangue O, Rh+**Tumorigenic** Sim, os tumores desenvolveram-se em 21 dias com uma frequência de 100% (5/5) em ratos nude inoculados por via subcutânea com 1×10^7 células.**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 114 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células KLE | 305051

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células KLE | 305051

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil STR

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: 28,3
D18S51: 13,17
Penta E: 7
Penta D: 13
D8S1179: 8,14
FGA: 23,25
D1S1656: 15. Mrz
D6S1043: 15. Mrz
D2S1338: 18,19
D12S391: 20,25
D19S433: 15