

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

A linhagem celular KLE é uma linhagem celular aderente derivada do endométrio de uma paciente branca do sexo feminino com adenocarcinoma. Essa linhagem celular foi estabelecida a partir de uma paciente com 64 dias de idade e, desde então, tornou-se uma ferramenta essencial na pesquisa sobre o câncer endometrial. As células KLE foram depositadas por GR Richardson e são conhecidas por suas propriedades tumorigênicas, pois formam tumores em até 21 dias com frequência de 100% quando inoculadas por via subcutânea em camundongos nude. Esses tumores não formam glândulas, mas apresentam microvilosidades, complexos juncionais e sistemas de canais nucleolares semelhantes aos encontrados no endométrio normal sob estimulação progesteronal.

As células KLE expressam o tipo sanguíneo O e são Rh-positivas, o que pode ser relevante para estudos específicos envolvendo a expressão de antígenos. A linhagem celular é comumente utilizada para estudar a fisiopatologia do carcinoma endometrial, com interesse particular em seu status de receptor de estrogênio negativo e receptor de progesterona positivo. Esse perfil de receptores torna as células KLE altamente adequadas para pesquisas sobre o papel da progesterona na progressão do câncer endometrial. Estudos de microscopia eletrônica de tumores derivados de células KLE forneceram informações detalhadas sobre a ultraestrutura celular, tornando essa linhagem celular um recurso essencial para a compreensão dos aspectos morfológicos do adenocarcinoma endometrial.

Organism Humano**Tissue** Útero, endométrio**Disease** Adenocarcinoma endometrial**Características****Age** 64 anos**Gender** Mulher**Ethnicity** Europeu**Morphology** Epithelial**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** KLE (número de catálogo da Cytion 305051)

Células KLE | 305051**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1329**Dados biomoleculares****Antigen expression** Tipo sanguíneo O, Rh+**Tumorigenic** Sim, os tumores se desenvolveram em 21 dias com frequência de 100% (5/5) em camundongos nude inoculados por via subcutânea com 1×10^7 células.**Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO_3 (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 114 horas**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 2 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células KLE | 305051

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a $300 \times g$ por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 , atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células KLE | 305051

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.