

## KB rakud | 300446

## Üldine teave

## Description

KB rakuliin on adherentne epiteelirakuliin, mis algselt arvati olevat saadud suu epidermise kartsinoomist. Hilisemad analüüsid, sealhulgas isoensüümianalüüsid, HeLa markerkromosoomi identifitseerimine ja DNA sõrmejälje määramine, näitasid siiski, et KB rakuliin on tegelikult tekkinud HeLa rakkude saastumise teel. See valesti identifitseerimine rõhutab rakuliinide range autentimise tähtsust teadusuuringutes.

KB rakud ekspresseerivad keratiini, mis on epiteelirakkude peamine struktuuriline valk, nagu kinnitas immunoperoksidaasivärvimine. Lisaks on leitud, et nad sisaldavad inimese papilloomiviiruse 18 (HPV-18) järjestusi, mis võivad pakkuda huvi viirusliku onkoloogiaga seotud uuringutes. KB-rakkude isoensüümiprofiil hõlmab glükoos-6-fosfaatdehüdrogenaasi (G6PD) A-tüüpi, mis on kooskõlas HeLa-rakkude omadustega. Neid tulemusi arvestades on oluline tunnistada, et KB rakkudel on HeLa rakkudega mitmeid ühiseid bioloogilisi omadusi, sealhulgas HeLa-spetsiifiliste markerkromosoomide olemasolu.

Seetõttu tuleks KB rakke kasutada ettevaatlikult, eriti katsetes, kus rakkude täpne päritolu on oluline. Sellele vaatamata on nad endiselt kasulikud mudeliks epiteelirakkude käitumise, vähibioloogia ning viirusliku integratsiooni ja ekspressiooni mehhanismide uurimiseks. Nagu kõik rakuliinid, on ka KB rakud mõeldud üksnes in vitro uuringuteks ja ei sobi terapeutilisteks või in vivo rakendusteks.

**Organism** Inimene

**Tissue** Endocervix

**Disease** Adenokartsinoom

**Synonyms** Tüvi KB

## Omadused

**Age** 30 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Afroameeriklane

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Cell type** Epidermoid

**Growth properties** Kinnipeetav

## KB rakud | 300446

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	KB (Cytioni katalooginumbr 300446)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0372

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Isoenzymes</b>	G6PD, tüüp A
<b>Virus susceptibility</b>	Polioviirus 1, adenoviirus 3
<b>Products</b>	Keratiin
<b>Karyotype</b>	2n = 46

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Seeding density</b>	2 x 10 <sup>4</sup> rakku/cm <sup>2</sup> annab 2-3 päeva jooksul tulemuseks konfluentse monokihi.
<b>Fluid renewal</b>	2 kuni 3 korda nädalas

## KB rakud | 300446

**Post-Thaw Recovery**

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**KB rakud | 300446**

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.