

KB-solut | 300446

Yleisiä tietoja

Description

KB-solulinja on tarttuva epiteelisolulinja, jonka alun perin uskottiin olevan peräisin suun epidermaalista karsinoomasta. Myöhemmät analyysit, mukaan lukien isoentsyymimääritykset, HeLa-merkkikromosomien tunnistaminen ja DNA-sormenjälkien määrittäminen, osoittivat kuitenkin, että KB-solulinja oli itse asiassa muodostunut HeLa-solujen kontaminaation kautta. Tämä virheellinen tunnistaminen korostaa tarkan solulinjan todentamisen merkitystä tutkimuksessa.

KB-solut ilmentävät keratiinia, joka on epiteelisolujen keskeinen rakenneproteiini, kuten immunoperoksidaasivärjäys vahvisti. Lisäksi niiden on todettu sisältävän ihmisen papilloomavirus 18:n (HPV-18) sekvenssejä, jotka voivat olla kiinnostavia virusonkologiaan liittyvissä tutkimuksissa. KB-solujen isoentsyymiprofiiliin kuuluu glukoosi-6-fosfaattidehydrogenaasi (G6PD) tyyppi A, joka vastaa HeLa-solujen ominaisuuksia. Näiden löydösten perusteella on tärkeää tunnustaa, että KB-soluilla on monia biologisia ominaisuuksia HeLa-solujen kanssa, mukaan lukien HeLa-spesifisten merkkikromosomien esiintyminen.

Tämän vuoksi KB-soluja olisi käytettävä varoen, erityisesti kokeissa, joissa solujen tarkka alkuperä on ratkaiseva. Tästä huolimatta ne ovat edelleen käyttökelpoinen malli epiteelisolujen käyttäytymisen, syöpäbiologian sekä virusten integroitumisen ja ilmentymisen mekanismien tutkimiseen. Kuten kaikki solulinjat, KB-solut on tarkoitettu yksinomaan in vitro -tutkimukseen, eivätkä ne sovellu terapeuttisiin tai in vivo -sovelluksiin.

Organism

Ihminen

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

Kanta KB

Ominaisuudet

Age

30 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Afroamerikkalainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Cell type

Epidermoidi

Growth properties

Tarttuva

KB-solut | 300446

Säätelytiedot

Citation	KB (Cytionin luettelonumero 300446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0372

Biomolekyyli tiedot

Isoenzymes	G6PD, tyyppi A
Virus susceptibility	Poliovirus 1, adenovirus 3
Products	Keratiini
Karyotype	2n = 46

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	2×10^4 solua/cm ² tuottaa yhtenäisen yksikerroksen 2-3 päivässä.

KB-solut | 300446

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

KB-solut | 300446

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.