

KB sejtek | 300446

Általános információk

Description

A KB sejtvonal egy tapadó hámsejtvonal, amelyről eredetileg azt hitték, hogy a száj epidermális karcinómájából származik. A későbbi elemzések, beleértve az izoenzimvizsgálatokat, a HeLa marker kromoszóma azonosítását és a DNS-ujjlenyomatok meghatározását, azonban kimutatták, hogy a KB sejtvonal valójában HeLa sejtekkel való kontamináció révén jött létre. Ez a téves azonosítás hangsúlyozza a szigorú sejtvonal-hitelesítés fontosságát a kutatásban.

A KB sejtek keratint, a hámsejtek egyik legfontosabb szerkezeti fehérjéjét expresszálják, amit immunoperoxidáz festés is megerősített. Ezenkívül kimutatták, hogy a humán papillomavírus 18 (HPV-18) szekvenciáit tartalmazzák, ami a vírusonkológiával kapcsolatos vizsgálatokban érdekes lehet. A KB sejtek izoenzim-profilja tartalmazza a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz (G6PD) A-típusát, ami összhangban van a HeLa sejtek jellemzőivel. Ezen eredmények ismeretében fontos felismerni, hogy a KB-sejtek számos biológiai tulajdonságban osztoznak a HeLa-sejtekkel, beleértve a HeLa-specifikus marker kromoszómák jelenlétét is.

Ennek eredményeképpen a KB sejteket óvatosan kell használni, különösen olyan kísérletekben, ahol a pontos sejt származás döntő fontosságú. Ennek ellenére továbbra is hasznos modell maradnak az epitelsejtek viselkedésének, a rákbiológiának, valamint a vírusintegráció és -expresszió mechanizmusainak tanulmányozására. Mint minden sejtvonal, a KB sejtek is szigorúan in vitro kutatásra szolgálnak, és nem alkalmasak terápiás vagy in vivo alkalmazásra.

Organism Emberi

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinóma

Synonyms Törzs KB

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Ethnicity Afroamerikai

Morphology Epithelszerű

Cell type Epidermoid

Growth properties Adherent

KB sejtek | 300446

Szabályozási adatok

Citation	KB (Cytion katalógusszám: 300446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0372

Biomolekuláris adatok

Isoenzymes	G6PD, A típus
Virus susceptibility	Poliovírus 1, adenovírus 3
Products	Keratin
Karyotype	2n = 46

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	2×10^4 sejt/cm ² 2-3 napon belül konfluens monoréteget eredményez.

KB sejtek | 300446

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

Flask Coating Nincs

KB sejtek | 300446

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.