

## KB ląstelės | 300446

## Bendra informacija

## Description

KB ląstelių linija yra adherentinė epitelio ląstelių linija, kuri, kaip manoma, iš pradžių buvo gauta iš burnos epidermio karcinomos. Tačiau vėlesni tyrimai, įskaitant izofermentų tyrimus, HeLa chromosomų žymenų identifikavimą ir DNR pirštų atspaudų nustatymą, atskleidė, kad KB ląstelių linija iš tikrųjų buvo sukurta užteršus HeLa ląsteles. Šis klaidingas identifikavimas pabrėžia griežto ląstelių linijų autentiškumo nustatymo svarbą moksliniuose tyrimuose.

KB ląstelės ekspresuoja keratiną, pagrindinį epitelio ląstelių struktūrinį baltymą, kaip patvirtinta imunoperoksidazės dažymu. Be to, nustatyta, kad jose yra žmogaus papilomos viruso 18 (ŽPV-18) sekų, kurios gali būti įdomios atliekant tyrimus, susijusius su virusine onkologija. KB ląstelių izofermentinis profilis apima A tipo gliukozės-6-fosfato dehidrogenazę (G6PD), atitinkančią HeLa ląstelių savybes. Atsižvelgiant į šiuos rezultatus, labai svarbu pripažinti, kad KB ląstelės turi daug bendrų biologinių savybių su HeLa ląstelėmis, įskaitant HeLa būdingų žymeninių chromosomų buvimą.

Todėl KB ląstelės turėtų būti naudojamos atsargiai, ypač atliekant eksperimentus, kuriuose labai svarbi tiksli ląstelių kilmė. Nepaisant to, jos išlieka naudingu modeliu epitelinių ląstelių elgsenai, vėžio biologijai ir virusų integracijos bei raiškos mechanizmams tirti. Kaip ir visos ląstelių linijos, KB ląstelės yra skirtos tik in vitro tyrimams ir netinka naudoti terapijoje ar in vivo.

<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Endocervix
<b>Disease</b>	Adenokarcinoma
<b>Synonyms</b>	Padermė KB

## Charakteristikos

<b>Age</b>	30 metų
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Ethnicity</b>	Afroamerikietis
<b>Morphology</b>	Į epitelį panašus
<b>Cell type</b>	Epidermoidinis
<b>Growth properties</b>	Priglundęs

## KB ląstelės | 300446

## Reguliavimo duomenys

<b>Citation</b>	KB (Cytion katalogo numeris 300446)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0372

## Biomolekuliniai duomenys

<b>Isoenzymes</b>	A tipo G6PD
<b>Virus susceptibility</b>	Poliovirusas 1, adenovirusas 3
<b>Products</b>	Keratinas
<b>Karyotype</b>	2n = 46

## Tvarkymas

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
<b>Supplements</b>	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ ląstelės/cm <sup>2</sup> per 2-3 dienas suformuos susiliejusią monosluoksnę.
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kartus per savaitę

## KB ląstelės | 300446

### Post-Thaw Recovery

Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

### Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikytės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

## KB ląstelės | 300446

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150$ - $196^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.