

## KB šūnas | 300446

## Vispārīga informācija

## Description

KB šūnu līnija ir adherenta epitēlija šūnu līnija, ko sākotnēji uzskatīja par atvasinātu no mutes epidermas karcinomas. Tomēr turpmākās analīzes, tostarp izoenzīmu testi, HeLa marķieru hromosomu identifikācija un DNS pirkstu nospiedumu noteikšana, atklāja, ka KB šūnu līnija patiesībā tika izveidota, inficējoties ar HeLa šūnām. Šī kļūdainā identifikācija uzsver, cik svarīga ir stingra šūnu līniju autentifikācija pētniecībā.

KB šūnas ekspresē keratīnu, kas ir epitēlija šūnu galvenais strukturālais proteīns, kā to apstiprina imūnperoksīdāzes krāsojums. Turklāt ir konstatēts, ka tās satur cilvēka papilomas vīrusa 18 (HPV-18) sekvenču, kas var būt interesantas ar vīrusu onkoloģiju saistītos pētījumos. KB šūnu izoenzīmu profils ietver A tipa glikozes-6-fosfātdehidrogenāzi (G6PD), kas atbilst HeLa šūnu īpašībām. Ņemot vērā šos atklājumus, ir būtiski atzīt, ka KB šūnām ir daudzas kopīgas bioloģiskās īpašības ar HeLa šūnām, tostarp HeLa specifisko marķieru hromosomu klātbūtne.

Tādēļ KB šūnas jāizmanto piesardzīgi, jo īpaši eksperimentos, kuros būtiska ir precīza šūnu izcelsme. Neraugoties uz to, tās joprojām ir noderīgs modelis epitēlija šūnu uzvedības, vēža bioloģijas un vīrusu integrācijas un ekspresijas mehānismu izpētei. Tāpat kā visas šūnu līnijas, KB šūnas ir paredzētas tikai in vitro pētījumiem un nav piemērotas terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.

<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Endocervix
<b>Disease</b>	Adenokarcinoma
<b>Synonyms</b>	Sasprindzinājums KB

## Raksturojums

<b>Age</b>	30 gadi
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Ethnicity</b>	Afroamerikānis
<b>Morphology</b>	Epitēlijveidīgs
<b>Cell type</b>	Epidermoīdā
<b>Growth properties</b>	Adherent

## KB šūnas | 300446

## Normatīvie dati

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

## Biomolekulārie dati

<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A tips
<b>Virus susceptibility</b>	Poliovīruss 1, adenovīruss 3
<b>Products</b>	Keratīns
<b>Karyotype</b>	2n = 46

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
<b>Seeding density</b>	2 x 10 <sup>4</sup> šūnas/cm <sup>2</sup> 2-3 dienu laikā veidos konfluentu monoslāni.
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā

## KB šūnas | 300446

**Post-Thaw Recovery**

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**KB šūnas | 300446**

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.