

KB bunky | 300446

Všeobecné informácie

Description

Bunkové línie KB sú adherentné epitelové bunkové línie, o ktorých sa pôvodne predpokladalo, že pochádzajú z epidermálneho karcinómu úst. Následné analýzy vrátane izoenzymových testov, identifikácie markerových chromozómov HeLa a určovania odtlačkov DNA však odhalili, že bunková línia KB v skutočnosti vznikla kontamináciou bunkami HeLa. Táto nesprávna identifikácia zdôrazňuje dôležitosť dôslednej autentifikácie bunkových línií vo výskume.

Bunky KB exprimujú keratín, kľúčový štruktúrny proteín epitelových buniek, čo sa potvrdilo imunoperoxidázovým farbením. Okrem toho sa zistilo, že obsahujú sekvencie ľudského papilomavírusu 18 (HPV-18), ktoré môžu byť zaujímavé v štúdiách týkajúcich sa vírusovej onkológie. Izoenzymový profil buniek KB zahŕňa glukózo-6-fosfát dehydrogenázu (G6PD) typu A, čo zodpovedá vlastnostiam buniek HeLa. Vzhľadom na tieto zistenia je veľmi dôležité uvedomiť si, že bunky KB majú mnoho spoločných biologických vlastností s bunkami HeLa vrátane prítomnosti markerových chromozómov špecifických pre HeLa.

V dôsledku toho by sa KB bunky mali používať opatrne, najmä v experimentoch, kde je rozhodujúci presný bunkový pôvod. Napriek tomu zostávajú užitočným modelom na štúdium správania epitelových buniek, biológie rakoviny a mechanizmov vírusovej integrácie a expresie. Tak ako všetky bunkové línie, aj KB bunky sú určené výlučne na výskum in vitro a nie sú vhodné na terapeutické alebo in vivo aplikácie.

Organism	Ľudské
Tissue	Endocervix
Disease	Adenokarcinóm
Synonyms	Kmeň KB

Charakteristika

Age	30 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epidermoid
Growth properties	Adherent

KB bunky | 300446

Regulačné údaje

Citation	KB (katalógové číslo Cytion 300446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0372

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	2×10^4 buniek/cm ² vytvorí konfluentnú monovrstvu za 2 až 3 dni.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

KB bunky | 300446**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste bunky v koncentracii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

KB bunky | 300446

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.