

KB Hücreleri | 300446

Genel bilgi

Description

KB hücre hattı, başlangıçta ağızdaki epidermal karsinomdan türetildiği düşünülen yapışık bir epitelyal hücre hattıdır. Ancak, izoenzim analizleri, HeLa marker kromozom tanımlaması ve DNA parmak izi dahil olmak üzere daha sonra yapılan analizler, KB hücre hattının aslında HeLa hücreleriyle kontaminasyon yoluyla oluşturulduğunu ortaya koymuştur. Bu yanlış tanımlama, araştırmalarda titiz hücre hattı kimlik doğrulamasının öneminin altını çizmektedir.

KB hücreleri, immünoperoksidaz boyama ile doğrulandığı üzere, epitel hücrelerinde önemli bir yapısal protein olan keratini ifade eder. Ayrıca, viral onkoloji ile ilgili çalışmalarda ilgi çekici olabilecek insan papillomavirüs 18 (HPV-18) dizilerini içerdikleri bulunmuştur. KB hücrelerinin izoenzim profili, HeLa hücrelerinin özellikleriyle tutarlı olarak glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) tip A içerir. Bu bulgular göz önüne alındığında, KB hücrelerinin HeLa hücreleri ile HeLa'ya özgü işaret kromozomlarının varlığı da dahil olmak üzere birçok biyolojik özelliği paylaştığını kabul etmek kritik önem taşımaktadır.

Sonuç olarak KB hücreleri, özellikle tam hücresel kökenin çok önemli olduğu deneylerde dikkatle kullanılmalıdır. Buna rağmen, epitelyal hücre davranışı, kanser biyolojisi ve viral entegrasyon ve ekspresyon mekanizmalarını incelemek için yararlı bir model olmaya devam etmektedirler. Tüm hücre hatlarında olduğu gibi, KB hücreleri de kesinlikle in vitro araştırmalar için tasarlanmıştır ve terapötik veya in vivo uygulamalar için uygun değildir.

Organism

İnsan

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

Strain KB

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Epitel benzeri

Cell type

Epidermoid

Growth properties

Yapışık

KB Hücreleri | 300446

Düzenleyici Veriler

Citation	KB (Cytion katalog numarası 300446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0372

Biyomoleküler Veriler

Isoenzymes	G6PD, tip A
Virus susceptibility	Poliovirüs 1, adenovirüs 3
Products	Keratin
Karyotype	2n = 46

Elleçleme

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Seeding density	2 x 10 ⁴ hücre/cm ² , 2 ila 3 gün içinde birleşik tek tabaka oluşturacaktır.
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez

KB Hücreleri | 300446

Post-Thaw Recovery

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2} nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

KB Hücreleri | 300446

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.