KB

300446

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

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 imunoperoksidāzes krāsojums. Turklāt ir konstatēts, ka tās satur cilvēka papilomas vīrusa 18 (HPV-18) sekvences, 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.

Audums	Endocervix
Slimība	Adenokarcinoma

Sinonīmi

- Strain KB

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Epidermoīdā

Kariotips

2n = 46

IDENTIFIKATORI

Atsauce

KB (Cytion kataloga numurs 300446)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_0372

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Izoenzīmi

G6PD, A tips

Jutība pret vīrusiem

Poliovīruss 1, adenovīruss 3

Produkti

Keratīns

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt 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 pārklājiet 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.

Sēšanas blīvums	2 x 10^4 šūnas/cm^2 2–3 dienu laikā veidos konfluentu monoslāni.
Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā
Atgūšanās pēc atkusņa	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	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.

Uzglabāšanas nosacījumi

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

Piegādes nosacījumi

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

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	30 gadi
Etniskā piederība	Afroamerikānis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes