

Клетки KB | 300446

Обща информация

Description

Клетъчната линия KB е адхезивна епителна клетъчна линия, за която първоначално се смяташе, че е получена от епидермален карцином на устата. Последващите анализи обаче, включително изоензимни анализи, идентификация на HeLa маркерни хромозоми и ДНК пръстови отпечатащи, разкриват, че клетъчната линия KB всъщност е създадена чрез замърсяване с HeLa клетки. Това погрешно идентифициране подчертава значението на стриктното удостоверяване на клетъчните линии в научните изследвания.

Клетките KB експресират кератин, ключов структурен протеин в епителните клетки, както се потвърждава чрез имунопероксидазно оцветяване. Освен това е установено, че те съдържат последователности от човешки папиломен вирус 18 (HPV-18), което може да представлява интерес за изследвания, свързани с вирусната онкология. Изоензимният профил на клетките KB включва глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа (G6PD) тип A, което съответства на характеристиките на клетките HeLa. Като се имат предвид тези констатации, от решаващо значение е да се признае, че KB клетките споделят много биологични свойства с HeLa клетките, включително наличието на специфични за HeLa хромозоми-маркери.

В резултат на това KB клетките трябва да се използват с повишено внимание, особено при експерименти, при които точният клетъчен произход е от решаващо значение. Въпреки това те остават полезен модел за изучаване на поведението на епителните клетки, биологията на рака и механизмите на вирусна интеграция и експресия. Както при всички клетъчни линии, клетките KB са предназначени единствено за *in vitro* изследвания и не са подходящи за терапевтични или *in vivo* приложения.

Organism

Човек

Tissue

Ендоцервикс

Disease

Аденокарцином

Synonyms

Щам KB

Характеристики

Age

30 години

Gender

Жена

Ethnicity

Афроамериканец

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Епидермоиден

Клетки KB | 300446

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation KB (каталожен номер 300446 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0372

Биомолекулярни данни

Isoenzymes G6PD, тип A

Virus susceptibility Полиовирус 1, аденовирус 3

Products Кератин

Karyotype 2n = 46

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Клетки KB | 300446

Seeding density 2 x 10⁴ клетки/см² ще доведат до конфлуентен монослой в рамките на 2 до 3 дни.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10⁴ клетки/см² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки KB | 300446

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Flask Coating Няма

Freezing Procedure Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.