

KB Cells | 300446

Obecné informace

Description

Buněčná linie KB je adherentní epiteliální buněčná linie, o níž se původně předpokládalo, že pochází z epidermálního karcinomu úst. Následné analýzy, včetně izoenzymových testů, identifikace HeLa markerových chromozomů a DNA fingerprintingu, však odhalily, že buněčná linie KB byla ve skutečnosti vytvořena kontaminací HeLa buňkami. Tato chybná identifikace podtrhuje význam důsledné autentizace buněčných linií ve výzkumu.

Buňky KB exprimují keratin, klíčový strukturální protein epiteliálních buněk, jak bylo potvrzeno barvením imunoperoxidázou. Kromě toho bylo zjištěno, že obsahují sekvence lidského papilomaviru 18 (HPV-18), které mohou být zajímavé pro studie týkající se virové onkologie. Izoenzymový profil buněk KB zahrnuje glukózo-6-fosfátdehydrogenázu (G6PD) typu A, což odpovídá vlastnostem buněk HeLa. Vzhledem k těmto zjištěním je důležité si uvědomit, že buňky KB sdílejí mnoho biologických vlastností s buňkami HeLa, včetně přítomnosti markerových chromozomů specifických pro HeLa.

V důsledku toho by se buňky KB měly používat s opatrností, zejména v experimentech, kde je rozhodující přesný buněčný původ. Přesto zůstávají užitečným modelem pro studium chování epiteliálních buněk, biologie rakoviny a mechanismů virové integrace a exprese. Stejně jako všechny buněčné linie jsou KB buňky určeny výhradně pro výzkum in vitro a nejsou vhodné pro terapeutické nebo in vivo aplikace.

Organism Člověk

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Synonyms Kmen KB

Charakteristika

Age 30 let

Gender Ženy

Ethnicity Afroameričan

Morphology Epitelu podobné

Cell type Epidermoidní

Growth properties Adherentní

KB Cells | 300446

Regulační údaje

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

Biomolekulární data

Isoenzymes	G6PD, typ A
Virus susceptibility	Poliovirus 1, adenovirus 3
Products	Keratin
Karyotype	2n = 46

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:10
Seeding density	2×10^4 buněk/cm ² vytvoří konfluentní monovrstvu během 2 až 3 dnů.

KB Cells | 300446

Fluid renewal 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný

KB Cells | 300446

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,10
D13S317: 12,13.2
D16S539: 9,10
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16,18
D3S1358: 15,18
D21S11: 27,28
D18S51: 16
Penta E: 7,17
Penta D: 8,15
D8S1179: 12,13
FGA: 21