

KB-celler | 300446

General information

Description

KB-cellelinjen er en adhærent epitelcellelinje, som man oprindeligt troede stammede fra et epidermalt karcinom i munden. Efterfølgende analyser, herunder isoenzym-assays, identifikation af HeLa-markørkromosomer og DNA-fingeraftryk, afslørede imidlertid, at KB-cellelinjen faktisk blev etableret gennem kontaminering med HeLa-celler. Denne fejlidentifikation understreger vigtigheden af streng autentificering af cellelinjer i forskning.

KB-celler udtrykker keratin, et vigtigt strukturelt protein i epitelceller, hvilket bekræftes af immunoperoxidasefarvning. Derudover har de vist sig at indeholde sekvenser fra human papillomavirus 18 (HPV-18), som kan være af interesse i studier relateret til viral onkologi. KB-cellernes isoenzymprofil omfatter glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) type A, hvilket er i overensstemmelse med HeLa-cellernes karakteristika. På baggrund af disse fund er det vigtigt at erkende, at KB-celler deler mange biologiske egenskaber med HeLa-celler, herunder tilstedeværelsen af HeLa-specifikke markørkromosomer.

Derfor skal KB-celler bruges med forsigtighed, især i eksperimenter, hvor den nøjagtige cellulære oprindelse er afgørende. På trods af dette er de stadig en nyttig model til at studere epitelcellers adfærd, kræftbiologi og mekanismerne for virusintegration og -ekspression. Som med alle cellelinjer er KB-celler udelukkende beregnet til in vitro-forskning og er ikke egnede til terapeutiske eller in vivo-anvendelser.

Organism	Menneske
Tissue	Endocervix
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	Stamme KB

Karakteristika

Age	30 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Afroamerikaner
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epidermoid
Growth properties	Vedhæftende

KB-celler | 300446

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	2 x 10 ⁴ celler/cm ² vil resultere i et sammenhængende monolag inden for 2 til 3 dage.
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen

KB-celler | 300446

Post-Thaw Recovery

Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysingsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

KB-celler | 300446

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.