

KB-Zellen | 300446

Allgemeine Informationen

Description

Die KB-Zelllinie ist eine adhärente Epithelzelllinie, von der ursprünglich angenommen wurde, dass sie von einem epidermalen Karzinom des Mundes stammt. Nachfolgende Analysen, einschließlich Isoenzym-Assays, Identifizierung von HeLa-Markerchromosomen und DNA-Fingerprinting, ergaben jedoch, dass die KB-Zelllinie tatsächlich durch Kontamination mit HeLa-Zellen entstanden war. Diese Verwechslung unterstreicht die Bedeutung einer strengen Authentifizierung von Zelllinien in der Forschung.

KB-Zellen exprimieren Keratin, ein wichtiges Strukturprotein in Epithelzellen, wie durch Immunoperoxidase-Färbung bestätigt wurde. Außerdem wurde festgestellt, dass sie Sequenzen des humanen Papillomavirus 18 (HPV-18) enthalten, was für Studien im Bereich der viralen Onkologie von Interesse sein könnte. Das Isoenzymprofil der KB-Zellen umfasst Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD) vom Typ A, was mit den Merkmalen der HeLa-Zellen übereinstimmt. In Anbetracht dieser Ergebnisse ist es wichtig zu erkennen, dass KB-Zellen viele biologische Eigenschaften mit HeLa-Zellen gemeinsam haben, einschließlich des Vorhandenseins von HeLa-spezifischen Marker-Chromosomen.

Daher sollten KB-Zellen mit Vorsicht verwendet werden, insbesondere in Experimenten, bei denen der genaue zelluläre Ursprung entscheidend ist. Dennoch sind sie ein nützliches Modell für die Untersuchung des Verhaltens von Epithelzellen, der Krebsbiologie und der Mechanismen der Virusintegration und -expression. Wie alle Zelllinien sind auch KB-Zellen ausschließlich für die In-vitro-Forschung bestimmt und eignen sich nicht für therapeutische oder In-vivo-Anwendungen.

Organism Menschen

Tissue Endozervix

Disease Adenokarzinom

Synonyms Stämme KB

Merkmale

Age 30 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epithelähnlich

Cell type Epidermoid

KB-Zellen | 300446

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation KB (Cytion Katalognummer 300446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0372

Biomolekulare Daten

Isoenzymes G6PD, Typ A

Virus susceptibility Poliovirus 1, Adenovirus 3

Products Keratin

Karyotype 2n = 46

Handhabung

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

KB-Zellen | 300446

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:10

Seeding density 2×10^4 Zellen/cm² führen innerhalb von 2 bis 3 Tagen zu einer konfluenten Monoschicht.

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

KB-Zellen | 300446

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Freezing Procedure Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

KB-Zellen | 300446

STR-Profil

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