Product sheet

Κύτταρα KB | 300446

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά KB είναι μια προσκολλημένη επιθηλιακή κυτταρική σειρά που αρχικά πιστεύεται ότι προέρχεται από ένα επιδερμικό καρκίνωμα του στόματος. Ωστόσο, μεταγενέστερες αναλύσεις, συμπεριλαμβανομένων δοκιμών ισοενζύμων, ταυτοποίησης χρωμοσωμάτων-δεικτών HeLa και δακτυλικών αποτυπωμάτων DNA, αποκάλυψαν ότι η κυτταρική σειρά KB δημιουργήθηκε στην πραγματικότητα μέσω μόλυνσης με κύτταρα HeLa. Αυτή η λανθασμένη ταυτοποίηση υπογραμμίζει τη σημασία της αυστηρής πιστοποίησης της ταυτότητας των κυτταρικών σειρών στην έρευνα. Τα κύτταρα KB εκφράζουν κερατίνη, μια βασική δομική πρωτεΐνη στα επιθηλιακά κύτταρα, όπως επιβεβαιώθηκε με χρώση ανοσοϋπεροξειδάσης. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι περιέχουν αλληλουχίες από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων 18 (HPV-18), ο οποίος μπορεί να παρουσιάζει ενδιαφέρον σε μελέτες που σχετίζονται με την ιογενή ογκολογία. Το προφίλ ισοενζύμων των κυττάρων KB περιλαμβάνει αφυδρογονάση της γλυκόζης-6-φωσφορικού άλατος (G6PD) τύπου A, σε συμφωνία με τα χαρακτηριστικά των κυττάρων HeLa. Δεδομένων αυτών των ευρημάτων, είναι κρίσιμο να αναγνωριστεί ότι τα κύτταρα KB μοιράζονται πολλές βιολογικές ιδιότητες με τα κύτταρα HeLa, συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας χρωμοσωμάτων-δεικτών ειδικών για τη HeLa. Κατά συνέπεια, τα κύτταρα KB πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή, ιδίως σε πειράματα όπου η ακριβής κυτταρική προέλευση είναι ζωτικής σημασίας. Παρόλα αυτά, παραμένουν ένα χρήσιμο μοντέλο για τη μελέτη της συμπεριφοράς των επιθηλιακών κυττάρων, της βιολογίας του καρκίνου και των μηχανισμών της ενσωμάτωσης και της έκφρασης των ιών. Όπως συμβαίνει με όλες τις κυτταρικές σειρές, τα κύτταρα KB προορίζονται αυστηρά για in vitro έρευνα και δεν είναι κατάλληλα για θεραπευτικές ή in vivo εφαρμογές.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ενδοτράχηλος
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Synonyms	Στέλεχος KB

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιδερμοειδές

Κύτταρα KB | 300446

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Isoenzymes	G6PD, τύπος A
Virus susceptibility	Πολιοϊός 1, αδενοϊός 3
Products	Κερατίνη
Karyotype	2n = 46

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα KB | 300446

Seeding density	2 x 10^4 κύτταρα/cm^2 θα οδηγήσουν σε συγχωνευόμενο μονοστρωματικό στρώμα εντός 2 έως 3 ημερών.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.