

Cellules KB | 300446

Informations générales

Description

La lignée cellulaire KB est une lignée cellulaire épithéliale adhérente que l'on croyait initialement dérivée d'un carcinome épidermique de la bouche. Cependant, des analyses ultérieures, notamment des tests isoenzymes, l'identification des chromosomes marqueurs HeLa et l'empreinte ADN, ont révélé que la lignée cellulaire KB était en fait issue d'une contamination par des cellules HeLa. Cette erreur d'identification souligne l'importance d'une authentification rigoureuse des lignées cellulaires dans la recherche.

Les cellules KB expriment la kératine, une protéine structurelle clé des cellules épithéliales, comme le confirme la coloration par immunoperoxydase. En outre, elles contiennent des séquences du papillomavirus humain 18 (HPV-18), ce qui peut présenter un intérêt pour les études liées à l'oncologie virale. Le profil isoenzyme des cellules KB comprend la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) de type A, ce qui correspond aux caractéristiques des cellules HeLa. Compte tenu de ces résultats, il est essentiel de reconnaître que les cellules KB partagent de nombreuses propriétés biologiques avec les cellules HeLa, y compris la présence de chromosomes marqueurs spécifiques de HeLa.

Par conséquent, les cellules KB doivent être utilisées avec prudence, en particulier dans les expériences où l'origine cellulaire exacte est cruciale. Malgré cela, elles restent un modèle utile pour étudier le comportement des cellules épithéliales, la biologie du cancer et les mécanismes d'intégration et d'expression virales. Comme toutes les lignées cellulaires, les cellules KB sont strictement destinées à la recherche in vitro et ne conviennent pas à des applications thérapeutiques ou in vivo.

Organism

Humain

Tissue

Endocol

Disease

Adénocarcinome

Synonyms

Souche KB

Caractéristiques

Age

30 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Afro-américain

Morphology

De type épithélial

Cell type

Épidermoïde

Cellules KB | 300446

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Citation KB (numéro de catalogue Cytion 300446)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0372

Données biomoléculaires

Isoenzymes G6PD, type A**Virus susceptibility** Poliovirus 1, adénovirus 3**Products** Kératine**Karyotype** 2n = 46

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules KB | 300446

Split ratio	Un rapport de 1:4 à 1:10 est recommandé
--------------------	---

Seeding density	2×10^4 cellules/cm ² donneront lieu à une monocouche confluente en 2 à 3 jours.
------------------------	---

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm ² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
---------------------------	---

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.
----------------------	--

Cellules KB | 300446

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules KB | 300446**Shipping
Conditions**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire**Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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