

Cellule KB | 300446

Informazioni generali

Description

La linea cellulare KB è una linea cellulare epiteliale aderente inizialmente ritenuta derivata da un carcinoma epidermico della bocca. Tuttavia, analisi successive, tra cui saggi isoenzimatici, identificazione dei cromosomi marcatori di HeLa e fingerprinting del DNA, hanno rivelato che la linea cellulare KB è stata in realtà creata attraverso la contaminazione con cellule HeLa. Questa errata identificazione sottolinea l'importanza di una rigorosa autenticazione delle linee cellulari nella ricerca.

Le cellule KB esprimono cheratina, una proteina strutturale chiave delle cellule epiteliali, come confermato dalla colorazione con immunoperossidasi. Inoltre, è stato riscontrato che contengono sequenze del papillomavirus umano 18 (HPV-18), che possono essere interessanti per gli studi relativi all'oncologia virale. Il profilo isoenzimatico delle cellule KB include la glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) di tipo A, coerente con le caratteristiche delle cellule HeLa. Alla luce di questi risultati, è fondamentale riconoscere che le cellule KB condividono molte proprietà biologiche con le cellule HeLa, compresa la presenza di cromosomi marcatori specifici di HeLa.

Di conseguenza, le cellule KB devono essere utilizzate con cautela, in particolare negli esperimenti in cui l'esatta origine cellulare è fondamentale. Nonostante ciò, rimangono un modello utile per studiare il comportamento delle cellule epiteliali, la biologia del cancro e i meccanismi di integrazione ed espressione virale. Come tutte le linee cellulari, le cellule KB sono destinate esclusivamente alla ricerca in vitro e non sono adatte per applicazioni terapeutiche o in vivo.

Organism

Umano

Tissue

Endocervice

Disease

Adenocarcinoma

Synonyms

Ceppo KB

Caratteristiche

Age

30 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Afroamericano

Morphology

Simile all'epitelio

Cell type

Epidermoide

Cellule KB | 300446

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation KB (numero di catalogo Cytion 300446)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0372

Dati biomolecolari

Isoenzymes G6PD, tipo A**Virus susceptibility** Poliovirus 1, adenovirus 3**Products** Cheratina**Karyotype** 2n = 46

Manipolazione

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:10

Cellule KB | 300446

Seeding density 2×10^4 cellule/cm² daranno origine a un monostrato confluyente entro 2-3 giorni.

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Cellule KB | 300446

Flask Coating Nessuno**Freezing Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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