

KB Celler | 300446

Generell informasjon

Description

KB-cellelinjen er en adherent epitelcellelinje som opprinnelig ble antatt å stamme fra et epidermalt karsinom i munnen. Etterfølgende analyser, inkludert isoenzymanalyser, identifisering av HeLa-markørkromosomer og DNA-fingeravtrykk, avslørte imidlertid at KB-cellelinjen i virkeligheten ble etablert gjennom kontaminering med HeLa-celler. Denne feilidentifiseringen understreker hvor viktig det er med streng autentisering av cellelinjer i forskning.

KB-celler uttrykker keratin, et viktig strukturelt protein i epitelceller, noe som ble bekreftet ved immunoperoxidasefarging. I tillegg har det vist seg at de inneholder sekvenser fra humant papillomavirus 18 (HPV-18), noe som kan være av interesse i studier knyttet til viral onkologi. Isoenzymprofilen til KB-celler inkluderer glukose-6-fosfatdehydrogenase (G6PD) type A, noe som stemmer overens med egenskapene til HeLa-celler. På bakgrunn av disse funnene er det viktig å være klar over at KB-celler deler mange biologiske egenskaper med HeLa-celler, inkludert tilstedeværelsen av HeLa-spesifikke markørkromosomer.

Derfor bør KB-celler brukes med forsiktighet, særlig i eksperimenter der det eksakte cellulære opphavet er avgjørende. Til tross for dette er de fortsatt en nyttig modell for å studere epitelcellers atferd, kreftbiologi og mekanismene for virusintegrasjon og -uttrykk. Som med alle andre cellelinjer er KB-celler kun ment for in vitro-forskning og egner seg ikke til terapeutiske eller in vivo-formål.

Organism

Menneskelig

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

Stamme KB

Kjennetegn

Age

30 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Epidermoid

Growth properties

Vedhengende

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), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO ₃ , m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:4 til 1:10 anbefales
Seeding density	2×10^4 celler/cm ² vil resultere i et sammenvokst monolag innen 2 til 3 dager.

KB Celler | 300446

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrys ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

KB Celler | 300446

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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