

KB Cells | 300446

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa KB to przylegająca linia komórek nabłonkowych, o której początkowo sądzono, że pochodzi z raka naskórka jamy ustnej. Jednak późniejsze analizy, w tym testy izoenzymów, identyfikacja chromosomów markerowych HeLa i odciski palców DNA, ujawniły, że linia komórkowa KB została faktycznie utworzona poprzez zanieczyszczenie komórkami HeLa. Ta błędna identyfikacja podkreśla znaczenie rygorystycznego uwierzytelniania linii komórkowych w badaniach.

Komórki KB wykazują ekspresję keratyny, kluczowego białka strukturalnego w komórkach nabłonkowych, co zostało potwierdzone przez barwienie immunoperoksydazą. Ponadto stwierdzono, że zawierają one sekwencje wirusa brodawczaka ludzkiego 18 (HPV-18), co może być interesujące w badaniach związanych z onkologią wirusową. Profil izoenzymów komórek KB obejmuje dehydrogenazę glukozy-6-fosforanową (G6PD) typu A, co jest zgodne z charakterystyką komórek HeLa. Biorąc pod uwagę te odkrycia, kluczowe znaczenie ma uznanie, że komórki KB mają wiele biologicznych właściwości wspólnych z komórkami HeLa, w tym obecność chromosomów markerowych specyficznych dla komórek HeLa.

W rezultacie, komórki KB powinny być używane z ostrożnością, szczególnie w eksperymentach, w których dokładne pochodzenie komórkowe ma kluczowe znaczenie. Pomimo tego, pozostają one użytecznym modelem do badania zachowania komórek nabłonkowych, biologii nowotworów oraz mechanizmów integracji i ekspresji wirusów. Podobnie jak w przypadku wszystkich linii komórkowych, komórki KB są przeznaczone wyłącznie do badań *in vitro* i nie nadają się do zastosowań terapeutycznych lub *in vivo*.

Organism	Człowiek
Tissue	Szyjka macicy
Disease	Gruczolakorak
Synonyms	Obciążenie KB

Charakterystyka

Age	30 lat
Gender	Kobieta
Ethnicity	Afroamerykanin
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Epidermoid

KB Cells | 300446

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation KB (numer katalogowy Cytion 300446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0372

Dane biomolekularne

Isoenzymes G6PD, typ A

Virus susceptibility Poliowirus 1, adenowirus 3

Products Keratyna

Karyotype 2n = 46

Obsługa

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

Supplements Uzpełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:10

KB Cells | 300446

Seeding density	2 x 10 ⁴ komórek/cm ² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 2 do 3 dni.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10 ⁴ komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

KB Cells | 300446

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

KB Cells | 300446

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