

## Células KB | 300446

## Informações gerais

## Description

A linha celular KB é uma linha celular epitelial aderente que se pensava inicialmente ser derivada de um carcinoma epidérmico da boca. No entanto, análises subsequentes, incluindo ensaios isoenzimáticos, identificação de cromossomas marcadores de HeLa e impressões digitais de ADN, revelaram que a linha celular KB foi efetivamente estabelecida através de contaminação com células HeLa. Esta identificação incorrecta sublinha a importância de uma autenticação rigorosa das linhas celulares na investigação.

As células KB expressam queratina, uma proteína estrutural chave nas células epiteliais, como confirmado pela coloração com imunoperoxidase. Além disso, verificou-se que contém sequências do papilomavírus humano 18 (HPV-18), que podem ser de interesse em estudos relacionados com a oncologia viral. O perfil isoenzimático das células KB inclui a glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) tipo A, consistente com as características das células HeLa. Tendo em conta estes resultados, é fundamental reconhecer que as células KB partilham muitas propriedades biológicas com as células HeLa, incluindo a presença de cromossomas marcadores específicos das células HeLa.

Consequentemente, as células KB devem ser utilizadas com precaução, sobretudo em experiências em que a origem celular exacta é crucial. Apesar disso, continuam a ser um modelo útil para estudar o comportamento das células epiteliais, a biologia do cancro e os mecanismos de integração e expressão viral. Tal como acontece com todas as linhas celulares, as células KB destinam-se estritamente à investigação in vitro e não são adequadas para aplicações terapêuticas ou in vivo.

**Organism** Humano

**Tissue** Endocérvix

**Disease** Adenocarcinoma

**Synonyms** Estirpe KB

## Caraterísticas

**Age** 30 anos

**Gender** Feminino

**Ethnicity** Afro-americano

**Morphology** De tipo epitelial

**Cell type** Epidermoide

**Células KB | 300446**

**Growth properties** Aderente

**Dados regulamentares**

**Citation** KB (número de catálogo Cytion 300446)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0372

**Dados biomoleculares**

**Isoenzymes** G6PD, tipo A

**Virus susceptibility** Poliovírus 1, adenovírus 3

**Products** Queratina

**Karyotype** 2n = 46

**Manuseamento**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

## Células KB | 300446

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> resultarão numa monocamada confluyente dentro de 2 a 3 dias.

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

## Células KB | 300446

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosfera humidificada.

**Flask Coating** Nenhum

**Freezing Procedure** As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Shipping Conditions** As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage Conditions** Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

**Sterility** A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.