

Celule KB | 300446

Informații generale

Description

Linia celulară KB este o linie celulară epitelială aderentă despre care se credea inițial că provine dintr-un carcinom epidermic al gurii. Cu toate acestea, analizele ulterioare, inclusiv testele de izoenzime, identificarea cromozomului marker HeLa și amprentarea ADN, au arătat că linia celulară KB a fost de fapt stabilită prin contaminare cu celule HeLa. Această identificare eronată subliniază importanța autentificării riguroase a liniilor celulare în cercetare.

Celulele KB exprimă keratina, o proteină structurală esențială în celulele epiteliale, după cum confirmă colorarea cu imunoperoxidază. În plus, s-a constatat că acestea conțin secvențe din virusul papiloma uman 18 (HPV-18), care pot fi de interes în studiile legate de oncologia virală. Profilul izoenzimatic al celulelor KB include glucoza-6-fosfat dehidrogenază (G6PD) de tip A, în concordanță cu caracteristicile celulelor HeLa. Având în vedere aceste constatări, este esențial să recunoaștem că celulele KB împărtășesc multe proprietăți biologice cu celulele HeLa, inclusiv prezența cromozomilor marker specifici HeLa.

Prin urmare, celulele KB ar trebui utilizate cu prudență, în special în experimentele în care originea celulară exactă este esențială. În ciuda acestui fapt, ele rămân un model util pentru studierea comportamentului celulelor epiteliale, a biologiei cancerului și a mecanismelor de integrare și expresie virală. Ca toate liniile celulare, celulele KB sunt destinate strict cercetării in vitro și nu sunt adecvate pentru aplicații terapeutice sau in vivo.

Organism Om

Tissue Endocervix

Disease Adenocarcinom

Synonyms Strain KB

Caracteristici

Age 30 de ani

Gender Femei

Ethnicity African american

Morphology De tip epitelial

Cell type Epidermoid

Growth properties Aderent

Celule KB | 300446

Date de reglementare

Citation	KB (număr de catalog Cytion 300446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0372

Date biomoleculare

Isoenzymes	G6PD, tip A
Virus susceptibility	Poliovirus 1, adenovirus 3
Products	Keratina
Karyotype	2n = 46

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Seeding density	2 x 10 ⁴ celule/cm ² vor forma un strat monomolecular confluent în decurs de 2-3 zile.
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână

Celule KB | 300446

Post-Thaw Recovery

După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Celule KB | 300446

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.