

Celice KB | 300446

Splošne informacije

Description

Celična linija KB je adherentna epiteljska celična linija, za katero se je sprva domnevalo, da izvira iz epidermalnega karcinoma ustne votline. Vendar so poznejše analize, vključno z izoencimskimi testi, identifikacijo označevalnih kromosomov HeLa in prstnimi odtisi DNK, pokazale, da je celična linija KB dejansko nastala zaradi kontaminacije s celicami HeLa. Ta napačna identifikacija poudarja pomen strogega preverjanja pristnosti celičnih linij v raziskavah.

Celice KB izražajo keratin, ključni strukturni protein v epiteljskih celicah, kar je bilo potrjeno z imunoperoksidaznim barvanjem. Poleg tega je bilo ugotovljeno, da vsebujejo zaporedja človeškega papilomavirusa 18 (HPV-18), kar je lahko zanimivo za študije, povezane z virusno onkologijo. Izoencimski profil celic KB vključuje glukoza-6-fosfat dehidrogenazo (G6PD) tipa A, kar je skladno z značilnostmi celic HeLa. Glede na te ugotovitve je ključnega pomena, da se zavedamo, da imajo celice KB veliko skupnih bioloških lastnosti s celicami HeLa, vključno s prisotnostjo za HeLa specifičnih označevalnih kromosomov.

Zato je treba celice KB uporabljati previdno, zlasti pri poskusih, pri katerih je natančen celični izvor ključnega pomena. Kljub temu ostajajo uporaben model za preučevanje obnašanja epiteljskih celic, biologije raka ter mehanizmov virusne integracije in izražanja. Kot vse celične linije so tudi celice KB namenjene izključno raziskavam in vitro in niso primerne za terapevtsko uporabo ali uporabo in vivo.

Organism	Človek
Tissue	Endocervix
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	Napredek KB

Značilnosti

Age	30 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Afroameričan
Morphology	Epitelijam podobni
Cell type	Epidermoidni
Growth properties	Pripadajoče

Celice KB | 300446

Regulativni podatki

Citation	KB (katalogška številka Cytion 300446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0372

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	2 x 10 ⁴ celic/cm ² bo v 2 do 3 dneh povzročilo konfluentno monosloj.
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden

Celice KB | 300446

Post-Thaw Recovery

Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Celice KB | 300446

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.