

KB Cells | 300446

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія KB - це адгезійна епітеліальна клітинна лінія, яку спочатку вважали похідною епідермальної карциноми ротової порожнини. Однак подальші аналізи, включаючи ізоферментні аналізи, ідентифікацію маркерної хромосоми HeLa та ДНК-дактилоскопію, показали, що клітинна лінія KB насправді була отримана шляхом контамінації з клітинами HeLa. Ця помилкова ідентифікація підкреслює важливість ретельної аутентифікації клітинних ліній у дослідженнях.

Клітини KB експресують кератин, ключовий структурний білок епітеліальних клітин, що було підтверджено імунопероксидазним забарвленням. Крім того, було виявлено, що вони містять послідовності вірусу папіломи людини 18 (ВПЛ-18), що може становити інтерес для досліджень, пов'язаних з вірусною онкологією. Ізоферментний профіль клітин KB включає глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (G6PD) типу А, що відповідає характеристикам клітин HeLa. Враховуючи ці дані, важливо визнати, що клітини KB мають багато спільних біологічних властивостей з клітинами HeLa, включаючи наявність HeLa-специфічних маркерних хромосом.

Як наслідок, KB-клітини слід використовувати з обережністю, особливо в експериментах, де точне клітинне походження має вирішальне значення. Незважаючи на це, вони залишаються корисною моделлю для вивчення поведінки епітеліальних клітин, біології раку, механізмів інтеграції та експресії вірусів. Як і всі клітинні лінії, клітини KB призначені виключно для досліджень *in vitro* і не підходять для терапевтичного застосування або використання *in vivo*.

Organism	Людина
Tissue	Ендоцервікс
Disease	Аденокарцинома
Synonyms	Штам KB

Характеристики

Age	30 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Афроамериканець
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епідермоїдний

KB Cells | 300446

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation KB (номер за каталогом 300446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0372

Біомолекулярні дані

Isoenzymes G6PD, тип А

Virus susceptibility Поліовірус 1, аденовірус 3

Products Кератин

Karyotype 2n = 46

Обробка

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO₃, w: EBSS (цит. номер 820100a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

KB Cells | 300446

Seeding density 2×10^4 клітин/ cm^2 призведе до утворення злитого моношару протягом 2–3 днів.

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

KB Cells | 300446

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, волога атмосфера.

Flask Coating Ні

Freezing Procedure Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.