

Cellules KB | 300446

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire KB est une lignée de cellules épithéliales adhérentes que l'on croyait initialement provenir d'un carcinome épidermique de la bouche. Cependant, des analyses ultérieures, notamment des dosages d'isoenzymes, l'identification du chromosome marqueur HeLa et l'empreinte génétique, ont révélé que la lignée cellulaire KB avait en réalité été établie à la suite d'une contamination par des cellules HeLa. Cette erreur d'identification souligne l'importance d'une authentification rigoureuse des lignées cellulaires dans le domaine de la recherche.

Les cellules KB expriment la kératine, une protéine structurelle clé des cellules épithéliales, comme l'a confirmé la coloration à l'immunoperoxydase. De plus, on a découvert qu'elles contiennent des séquences du virus du papillome humain de type 18 (VPH-18), ce qui pourrait présenter un intérêt pour les études liées à l'oncologie virale. Le profil isoenzymatique des cellules KB comprend la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) de type A, ce qui correspond aux caractéristiques des cellules HeLa. Compte tenu de ces résultats, il est essentiel de reconnaître que les cellules KB partagent de nombreuses propriétés biologiques avec les cellules HeLa, y compris la présence de chromosomes marqueurs spécifiques aux cellules HeLa.

Par conséquent, les cellules KB doivent être utilisées avec prudence, en particulier dans les expériences où l'origine cellulaire exacte est cruciale. Malgré cela, elles demeurent un modèle utile pour l'étude du comportement des cellules épithéliales, de la biologie du cancer et des mécanismes d'intégration et d'expression virales. Comme toutes les lignées cellulaires, les cellules KB sont strictement destinées à la recherche in vitro et ne conviennent pas à des applications thérapeutiques ou in vivo.

Organism Humain

Tissue Endocervix

Disease Adénocarcinome

Synonyms Souche KB

Caractéristiques

Age 30 ans

Gender Femme

Ethnicity Afro-Américain

Morphology De type épithélial

Cell type Épidermoïde

Cellules KB | 300446

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Citation KB (numéro de catalogue Cytion 300446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0372

Données biomoléculaires

Isoenzymes G6PD, type A

Virus susceptibility Poliovirus 1, adénovirus 3

Products Kératine

Karyotype 2n = 46

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de NaHCO₃, et EBSS (référence Cytion 820100a)

Supplements Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules KB | 300446

Seeding density Une concentration de 2×10^4 cellules/cm² permettra d'obtenir une monocouche confluente en 2 à 3 jours.

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules KB | 300446

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.