

Células KB | 300446

Informações gerais

Description

A linhagem celular KB é uma linhagem de células epiteliais aderentes que, inicialmente, acreditava-se ser derivada de um carcinoma epidérmico da boca. No entanto, análises posteriores, incluindo ensaios de isoenzimas, identificação do cromossomo marcador HeLa e análise de impressão digital de DNA, revelaram que a linhagem celular KB foi, na verdade, estabelecida por meio de contaminação com células HeLa. Essa identificação incorreta ressalta a importância da autenticação rigorosa das linhagens celulares na pesquisa.

As células KB expressam queratina, uma proteína estrutural fundamental nas células epiteliais, conforme confirmado pela coloração com imunoperoxidase. Além disso, verificou-se que elas contêm sequências do papilomavírus humano 18 (HPV-18), o que pode ser de interesse em estudos relacionados à oncologia viral. O perfil de isoenzimas das células KB inclui a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) tipo A, o que é consistente com as características das células HeLa. Diante dessas descobertas, é fundamental reconhecer que as células KB compartilham muitas propriedades biológicas com as células HeLa, incluindo a presença de cromossomos marcadores específicos das células HeLa.

Consequentemente, as células KB devem ser utilizadas com cautela, especialmente em experimentos em que a origem celular exata seja crucial. Apesar disso, elas continuam sendo um modelo útil para o estudo do comportamento das células epiteliais, da biologia do câncer e dos mecanismos de integração e expressão viral. Assim como todas as linhagens celulares, as células KB destinam-se estritamente à pesquisa in vitro e não são adequadas para aplicações terapêuticas ou in vivo.

Organism Humano

Tissue Endocérvix

Disease Adenocarcinoma

Synonyms Cepas KB

Características

Age 30 anos

Gender Mulher

Ethnicity afro-americano

Morphology De tipo epitelial

Cell type Epidermoide

Células KB | 300446

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation KB (número de catálogo da 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

Manuseio

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)

Supplements Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Células KB | 300446

Seeding density 2×10^4 células/cm² resultarão em uma monocamada confluenta em 2 a 3 dias.

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Células KB | 300446

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.