

## Kelly Cells | 300317

## Obecné informace

## Description

Kellyho buněčná linie je lidská neuroblastomová buněčná linie odvozená z nádorové biopsie. Neuroblastom je zhoubný nádor, který vzniká z buněk nervového hřebene a obvykle postihuje děti a kojence. Kellyho buňky jsou hojně využívány ve výzkumu díky svým agresivním růstovým vlastnostem a schopnosti diferencovat se za specifických podmínek v buňky podobné neuronům. Tyto buňky vykazují vlastnosti typické pro neuroblastom, včetně vysoké úrovně amplifikace MYCN, která je spojena se špatnou prognózou a agresivním chováním nádoru. Díky tomu je buněčná linie Kelly cenným modelem pro studium molekulárních mechanismů neuroblastomu a pro testování potenciálních terapeutických látek.

Kellyho buňky jsou v kultuře adherentní a mohou růst v monovrstvě, takže jsou vhodné pro širokou škálu experimentálních aplikací, včetně screeningu léčiv, studií genové exprese a výzkumu buněčných signálních drah. Jsou zvláště užitečné pro studium účinků onkogeneze řízené MYCN a pro hodnocení účinnosti cílených terapií proti neuroblastomu. Buněčná linie Kelly slouží také jako model pro pochopení biologie metastazování neuroblastomu, protože tyto buňky mají schopnost migrovat a invadovat, což odráží chování agresivního neuroblastomu in vivo.

**Organism** Člověk

**Tissue** Mozek

**Disease** Neuroblastom

**Synonyms** KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN

## Charakteristika

**Age** 1 rok

**Gender** Ženy

**Ethnicity** Kavkazský

**Growth properties** Adherentní

## Regulační údaje

**Citation** Kelly (katalogové číslo Cytion 300317)

**Biosafety level** 1

## Kelly Cells | 300317

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_2092

## Biomolekulární data

Tumorigenic Ano, na nahých myších.

Viruses Negativní na HPV (lidský papilomavirus)

Products N-myc RnA

## Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 hodin

**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:6 až 1:8

Seeding density  $1 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup>

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Kelly Cells | 300317

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation  
Atmosphere**37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Kelly Cells | 300317

**Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,x

**CSF1PO:** 12

**D13S317:** 14

**D16S539:** 12,13

**D5S818:** 11,13

**D7S820:** 9

**TH01:** 9,3

**TPOX:** 8,10

**vWA:** 17,18

**D3S1358:** 14,16

**D21S11:** 28,30

**D18S51:** 14,17

**Penta E:** 12,16

**Penta D:** 9,14

**D8S1179:** 14

**FGA:** 20,21

**D1S1656:** 11,13

**D6S1043:** 12,13

**D2S1338:** 17,20

**D12S391:** 12,15.2

**D19S433:** 19,19.3

**Alely HLA**

**A\*:** '01:01:01

**B\*:** '08:01:01, '35:01:01

**C\*:** '04:01:01, '07:01:01

**DRB1\*:** '01:03:01, '03:01:01

**DQA1\*:** '01:01:01, '05:01:01

**DQB1\*:** '02:01:01, '05:01:01

**DPB1\*:** '04:01:01G, '04:02:01G

**E:** '01:01:01