Product sheet

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 NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte 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 odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte 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 x 10^4 buněk/cm^2
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 odstřeďujte 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 % $_{CO2}$, 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.

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 a molekulární analýza

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