Product sheet

Kelly Cells | 300317

Üldine teave

Description	Kelly rakuliin on inimese neuroblastoomi rakuliin, mis on saadud kasvaja biopsiast. Neuroblastoom on pahaloomuline kasvaja, mis tekib närvirakirakkudest ja mõjutab tavaliselt lapsi ja imikuid. Kelly rakke kasutatakse teadusuuringutes laialdaselt nende agressiivsete kasvuomaduste ja võime tõttu diferentseeruda neuronilaadseks rakuks spetsiifilistes tingimustes. Nendel rakkudel on neuroblastoomile iseloomulikud omadused, sealhulgas MYCN-i kõrge amplifikatsioon, mis on seotud halva prognoosi ja agressiivse kasvajakäitumisega. See muudab Kelly rakuliini väärtuslikuks mudeliks neuroblastoomi molekulaarmehhanismide uurimiseks ja võimalike terapeutiliste ainete testimiseks. Kelly rakud on kultuuris kleepuvad ja võivad kasvada monokihina, mistõttu sobivad nad mitmesuguste eksperimentaalsete rakenduste jaoks, sealhulgas ravimite skriininguks, geeniekspressiooni uuringuteks ja raku signaaliradade uurimiseks. Nad on eriti kasulikud MYCN-juhitud onkogeneesi mõjude uurimiseks ja neuroblastoomi vastu suunatud ravimeetodite tõhususe hindamiseks. Kelly rakuliin on ka mudeliks neuroblastoomi metastaaside bioloogia mõistmiseks, kuna need rakud on võimelised rändama ja tungima, mis peegeldab agressiivse neuroblastoomi käitumist in vivo.
Organism	Inimene
Tissue	Aju
Disease	Neuroblastoom
Synonyms	KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN

Omadused

Age	1 aasta
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	Kelly (Cytioni kataloginumber 300317)
Biosafety level	1

Kelly Cells | 300317

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2092

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel.
Viruses	Negatiivne HPV (inimese papilloomiviiruse) suhtes
Products	N-myc RnA

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Kelly Cells | 300317

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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