

Kelly Cells | 300317

Bendra informacija

Description	Kelly ląstelių linija yra žmogaus neuroblastomos ląstelių linija, gauta iš naviko biopsijos. Neuroblastoma yra piktybinis navikas, atsirandantis iš nervų keteros ląstelių, dažniausiai pasireiškiantis vaikams ir kūdikiams. Kelly ląstelės plačiai naudojamos moksliniuose tyrimuose dėl jų agresyvaus augimo savybių ir gebėjimo diferencijuotis į neuronines ląsteles tam tikromis sąlygomis. Šioms ląstelėms būdingos neuroblastomai būdingos savybės, įskaitant aukštą MYCN amplifikacijos lygį, kuris siejamas su bloga prognoze ir agresyviu naviko elgesiu. Dėl to Kelly ląstelių linija yra vertingas modelis neuroblastomos molekuliniams mechanizms tirti ir galimiems terapiniams preparatams išbandyti. Kelly ląstelės kultūroje yra adherentiškos ir gali augti monosluoksniu, todėl jos tinka įvairiems eksperimentams, įskaitant vaistų atranką, genų raiškos tyrimus ir ląstelių signalinių kelių tyrimus. Jos ypač naudingos tiriant MYCN nulemtos onkogenezės poveikį ir vertinant taikinių terapijos veiksmingumą neuroblastomai. Kelly ląstelių linija taip pat naudojama kaip modelis neuroblastomos metastazių biologijai suprasti, nes šios ląstelės geba migruoti ir įsiskverbti, o tai atspindi agresyvios neuroblastomos elgesį in vivo.
Organism	Žmogus
Tissue	Smegenys
Disease	Neuroblastoma
Synonyms	KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN

Charakteristikos

Age	1 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	Kelly (Cytion katalogo numeris 300317)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Kelly Cells | 300317

CellosaurusAccession CVCL_2092

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Taip, nuogoms pelėms.
Viruses	Neigiamas ŽPV (žmogaus papilomos virusas)
Products	N-myc RnA

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1×10^4 ląstelės/cm ²
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Kelly Cells | 300317

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Kelly Cells | 300317

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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