Product sheet

Kelly Cells | 300317

Vispārīga informācija

Description	Kelly šūnu līnija ir cilvēka neiroblastomas šūnu līnija, kas iegūta no audzēja biopsijas. Neiroblastoma ir ļaundabīgs audzējs, kas rodas no nervu kores šūnām un parasti skar bērnus un zīdaiņus. Kelly šūnas tiek plaši izmantotas pētniecībā, jo tām piemīt agresīvas augšanas īpašības un spēja noteiktos apstākļos diferencēties par neironiem līdzīgām šūnām. Šīm šūnām piemīt neiroblastomai raksturīgas īpašības, tostarp augsts MYCN amplifikācijas līmenis, kas ir saistīts ar sliktu prognozi un agresīvu audzēja uzvedību. Tas padara Kelly šūnu līniju par vērtīgu modeli neiroblastomas molekulāro mehānismu izpētei un potenciālo terapeitisko līdzekļu testēšanai. Kelly šūnas kultūrā ir adherentas un var augt monoslānī, tāpēc tās ir piemērotas dažādiem eksperimentāliem lietojumiem, tostarp zāļu skrīningam, gēnu ekspresijas pētījumiem un šūnu signalizācijas ceļu izpētei. Tās ir īpaši noderīgas, lai pētītu MYCN izraisītas onkoģenēzes ietekmi un novērtētu neiroblastomas mērķterapijas efektivitāti. Kelly šūnu līnija kalpo arī kā modelis, lai izprastu neiroblastomas metastāžu bioloģiju, jo šīm šūnām ir spēja migrēt un invadēt, atspoguļojot agresīvas neiroblastomas uzvedību in vivo.
Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Neuroblastoma
Synonyms	KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN

Raksturojums

Age	1 gads
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	Kelly (Cytion kataloga numurs 300317)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Kelly Cells | 300317

CellosaurusAccession	CVCL_2092

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā, kailām pelēm.
Viruses	Negatīvs uz HPV (cilvēka papilomas vīrusu)
Products	N-myc RnA

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Kelly Cells | 300317

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Kelly Cells | 300317

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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