

Kelly Cells | 300317

Generell informasjon

Description

Kelly-cellelinjen er en human neuroblastomcellelinje som er avledet fra en tumorbiopsi. Neuroblastom er en ondartet svulst som oppstår fra celler i nevrallisten, og som vanligvis rammer barn og spedbarn. Kelly-celler brukes mye i forskning på grunn av deres aggressive vekstegenskaper og deres evne til å differensiere til nevronlignende celler under spesifikke forhold. Disse cellene har egenskaper som er typiske for neuroblastom, blant annet høye nivåer av MYCN-amplifikasjon, som er forbundet med dårlig prognose og aggressiv tumoratferd. Dette gjør Kelly-cellelinjen til en verdifull modell for å studere de molekylære mekanismene ved neuroblastom og for å teste ut potensielle terapeutiske midler.

Kelly-celler er adherente i kultur og kan vokse i monolag, noe som gjør dem egnet for en lang rekke eksperimentelle anvendelser, blant annet screening av legemidler, genekspressjonsstudier og undersøkelser av cellulære signalveier. De er spesielt nyttige for å studere effekten av MYCN-drevet onkogenese og for å evaluere effekten av målrettede terapier mot neuroblastom. Kelly-cellelinjen fungerer også som en modell for å forstå biologien bak neuroblastom-metastase, ettersom disse cellene har evnen til å migrere og invadere, noe som gjenspeiler atferden til aggressivt neuroblastom in vivo.

Organism

Menneskelig

Tissue

Hjerne

Disease

Neuroblastom

Synonyms

KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN

Kjennetegn

Age

1 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

Kelly (Cytion-katalognummer 300317)

Biosafety level

1

Kelly Cells | 300317

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2092

Biomolekylære data

Tumorigenic Ja, i nakne mus.

Viruses Negativ for HPV (humant papillomavirus)

Products N-myc RnA

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:6 til 1:8 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Kelly Cells | 300317

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Kelly Cells | 300317

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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