Product sheet

Kelly Cells | 300317

Generell informasjon

Description	Kelly-cellelinjen er en human nevroblastomcellelinje som er avledet fra en tumorbiopsi. Nevroblastom 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 nevroblastom, 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 nevroblastom 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, genekspresjonsstudier 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 nevroblastom. Kelly-cellelinjen fungerer også som en modell for å forstå biologien bak nevroblastom-metastase, ettersom disse cellene har evnen til å migrere og invadere, noe som gjenspeiler atferden til aggressivt nevroblastom in vivo.
Organism	Menneskelig
Tissue	Hjerne
Disease	Nevroblastom
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, resuspender 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 x 10^4 celler/cm^2
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 kryoindusert stress.

Kelly Cells | 300317

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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 °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 °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 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. 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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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 og molekylær analyse

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