Product sheet

Kelly Cells | 300317

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa Kelly to ludzka linia komórkowa neuroblastoma pochodząca z biopsji guza. Neuroblastoma jest nowotworem złośliwym, który powstaje z komórek grzebienia nerwowego i zazwyczaj dotyka dzieci i niemowlęta. Komórki Kelly są szeroko wykorzystywane w badaniach ze względu na ich agresywną charakterystykę wzrostu i zdolność do różnicowania się w komórki podobne do neuronów w określonych warunkach. Komórki te wykazują właściwości typowe dla nerwiaka niedojrzałego, w tym wysoki poziom amplifikacji MYCN, co wiąże się ze złym rokowaniem i agresywnym zachowaniem guza. Sprawia to, że linia komórkowa Kelly jest cennym modelem do badania mechanizmów molekularnych nerwiaka niedojrzałego i testowania potencjalnych środków terapeutycznych. Komórki Kelly są przylegające w hodowli i mogą rosnąć w monowarstwie, dzięki czemu nadają się do szerokiego zakresu zastosowań eksperymentalnych, w tym do badań przesiewowych leków, badań ekspresji genów i badań komórkowych szlaków sygnałowych. Są one szczególnie przydatne do badania skutków onkogenezy wywołanej przez MYCN oraz do oceny skuteczności terapii celowanych przeciwko nerwiakowi niedojrzałemu. Linia komórkowa Kelly służy również jako model do zrozumienia biologii przerzutów nerwiaka niedojrzałego, ponieważ komórki te mają zdolność do migracji i inwazji, odzwierciedlając zachowanie agresywnego nerwiaka niedojrzałego in vivo.
Organism	Człowiek
Tissue	Mózg
Disease	Neuroblastoma
Synonyms	KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN

Charakterystyka

Age	1 rok
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	Kelly (numer katalogowy Cytion 300317)

Product sheet

Kelly Cells | 300317

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2092

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u nagich myszy.
Viruses	Negatywny dla wirusa HPV (wirus brodawczaka ludzkiego)
Products	N-myc RnA

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:6 do 1:8
Seeding density	1×10^4 kom^{órek}/cm^2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

Kelly Cells | 300317

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak

Kelly Cells | 300317

Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Kelly Cells | 300317

Profil STR	**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
Allele HLA	**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