

**Células Kelly | 300317****Informações gerais****Description**

A linha celular Kelly é uma linha celular de neuroblastoma humano derivada de uma biopsia de tumor. O neuroblastoma é um tumor maligno que surge a partir de células da crista neural, afectando normalmente crianças e bebés. As células Kelly são amplamente utilizadas na investigação devido às suas características de crescimento agressivo e à sua capacidade de se diferenciarem em células semelhantes a neurónios em condições específicas. Estas células apresentam propriedades típicas do neuroblastoma, incluindo níveis elevados de amplificação MYCN, que está associada a um mau prognóstico e a um comportamento agressivo do tumor. Este facto torna a linha celular Kelly um modelo valioso para o estudo dos mecanismos moleculares do neuroblastoma e para testar potenciais agentes terapêuticos.

As células Kelly são aderentes em cultura e podem crescer numa monocamada, o que as torna adequadas para uma vasta gama de aplicações experimentais, incluindo o rastreio de fármacos, estudos de expressão genética e investigações sobre as vias de sinalização celular. São particularmente úteis para estudar os efeitos da oncogénese induzida por MYCN e para avaliar a eficácia de terapias orientadas contra o neuroblastoma. A linha celular Kelly também serve de modelo para compreender a biologia das metástases do neuroblastoma, uma vez que estas células têm a capacidade de migrar e invadir, reflectindo o comportamento do neuroblastoma agressivo in vivo.

**Organism** Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Neuroblastoma**Synonyms** KELLY, NB19, NB-19, NB19-RIKEN**Caraterísticas****Age** 1 ano**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Kelly (número de catálogo Cytion 300317)

**Células Kelly | 300317****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2092**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus.**Viruses** Negativo para HPV (vírus do papiloma humano)**Products** N-myc RnA**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células Kelly | 300317

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células Kelly | 300317

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Alelos 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