

Células SH-SY5Y | 300154**Informações gerais****Description**

As células SH-SY5Y, um subclone derivado da linha celular de cancro neuroblastoma SK-N-SH, são um modelo celular valioso para doenças neurodegenerativas como as doenças de Parkinson e de Alzheimer. A linha celular SK-N-SH foi criada em 1970 a partir de uma biopsia de um tumor ósseo metastático de um doente com cancro de 4 anos de idade. A linha celular SH-SY5Y humana oferece uma fonte celular única para estudos funcionais em neurobiologia e investigação de doenças neurodegenerativas.

As células SH-SY5Y crescem de forma aderente e em suspensão, formando aglomerados durante a divisão que diferem significativamente da morfologia das células diferenciadas. Estas células indiferenciadas, antes de sofrerem diferenciação neuronal, servem de base essencial para estudos neurocientíficos.

A diferenciação neuronal das células SH-SY5Y, que as transforma em modelos de células neuronais semelhantes a vários neurónios funcionais, é conseguida através de processos de interconversão bioquímica que envolvem a privação gradual de soro, ácido retinóico, factores neurotróficos, como o fator neurotrófico derivado do cérebro, e proteínas da matriz extracelular. Esta diferenciação é crucial para o estudo de marcadores neuronais e para a realização de investigação neurotoxicológica, especialmente no que diz respeito ao impacto de poluentes orgânicos em células semelhantes a neurónios humanos.

A neurobiologia das células de neuroblastoma SH-SY5Y, conhecidas principalmente pelas suas características dopaminérgicas, pode ser explorada quanto às propriedades colinérgicas em condições de diferenciação específicas. Embora estas células possam expressar acetilcolinesterase, o que indica alguma atividade colinérgica, a sua utilidade no estudo da neurotransmissão colinérgica é menos pronunciada do que o seu papel nos estudos do sistema dopaminérgico.

Como modelo neurotoxicológico, a linha celular de neuroblastoma SH-SY5Y é fundamental para examinar os efeitos dos compostos nas actividades da acetilcolinesterase e da butirilcolinesterase, essenciais para os estudos neurotoxicológicos. A contribuição da linha sy5y para a compreensão das vias bioquímicas envolvidas nas doenças neurodegenerativas, associada ao seu papel nos estudos funcionais dos sistemas dopaminérgico e colinérgico, sublinha o seu valor na investigação em neurociências.

Organism Humano**Tissue** Medula óssea**Disease** Neuroblastoma**Metastatic site** Medula óssea**Synonyms** SH-Sy5y, SHSY5Y, SHSY-5Y, SK-SH-SY5Y, SY5Y, SH-SY5Y Parental**Caraterísticas****Age** 4 anos

Células SH-SY5Y | 300154**Gender** Feminino**Morphology** As células crescem como aglomerados de células neuroblásticas com processos celulares múltiplos, curtos e finos (neurites). As células agregam-se, formam aglomerados e flutuam. Não se forma uma monocamada confluenta.**Cell type** Neuroblastos**Growth properties** Pouco aderentes e formam aglomerados com elevada densidade celular**Dados regulamentares****Citation** SH-SY5Y (número de catálogo Cytion 300154)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0019**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Forma tumores em ratinhos nus em cerca de 3-4 semanas.**Karyotype** A paisagem citogenética das células SH-SY5Y é marcada por aberrações cromossômicas complexas, nomeadamente com um número cromossômico modal de 47, incluindo a trissomia do 1q devido a uma inserção distinta no cromossoma 1. Este cenário genético é crucial para a compreensão da biologia celular e do potencial oncogénico das células SH-SY5Y, tornando-as um modelo versátil na investigação neurocientífica, particularmente nos domínios do neurodesenvolvimento, da neurotoxicidade e do estudo das doenças neurodegenerativas.**Manuseamento****Culture Medium** Misturar EMEM e Ham's F12 numa proporção de 50:50 (números de artigo Cytion 820100a e 820600a)**Supplements** Suplementar o meio com 15% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Células SH-SY5Y | 300154

Subculturing Estas células crescem como uma mistura de células flutuantes e aderentes. Remover o meio com as células flutuantes e recuperar as células por centrifugação. Lavar as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (3-5 ml de PBS para T25, 5-10 ml para frascos de cultura de células T75). Adicionar Accutase (1-2 ml por T25, 2,5 ml por frasco de cultura de células T75), devendo a folha de células ser completamente coberta. Incubar a 37 graus Celsius durante 10 minutos. Combinar com as células flutuantes recuperadas acima. Ressuspender cuidadosamente as células, a adição de meio é opcional mas não necessária, e distribuir em novos frascos que contenham meio fresco.

Seeding density Densidade de semeadura após descongelamento 6×10^4 células/cm², semear em frasco de cultura celular 1x T25. As células tornar-se-ão 80-90% confluentes dentro de 1-2 semanas. Quando as células proliferarem vigorosamente, semear as células a uma densidade de $1 - 2 \times 10^4$ células/cm².

Fluid renewal 1 a 2 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, 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 SH-SY5Y | 300154

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°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°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°C , 5% 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°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SH-SY5Y | 300154

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 inspeções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x, y
CSF1PO: 11
D13S317: 11
D16S539: 8,13
D5S818: 12
D7S820: 7,1
TH01: 7,1
TPOX: 8,11
vWA: 14,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 31,31,2
D18S51: 13,16
Penta E: 7,11
Penta D: 10,12
D8S1179: 15
FGA: 23,2; 24
D6S1043: 12,18
D2S1338: 17,19
D12S391: 18,22
D19S433: 13,14

Células SH-SY5Y | 300154

Alelos HLA

A*: '01:01:01, '24:02:01

B*: '18:01:01, '49:01:01

C*: '07:01:01

DRB1*: '11:04:01, '13:01:01

DQA1*: '01:03:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '06:03:01

DPB1*: '02:01:02, '04:01:01

E: '01:01, '01:03