

SH-SY5Y-solut | 300154

Yleisiä tietoja

Description

SH-SY5Y-solut, neuroblastooman syöpäsolulinjan SK-N-SH alaklooni, ovat arvokas solumalli neurodegeneratiivisten sairauksien, kuten Parkinsonin ja Alzheimerin taudin, tutkimiseen. SK-N-SH-solulinja perustettiin vuonna 1970 4-vuotiaan syöpäpotilaan metastaattisen luukasvaimen biopsiasta. Ihmisen SH-SY5Y-solulinja tarjoaa ainutlaatuisen solulähteen neurobiologian ja hermoston rappeutumissairauksien tutkimuksen toiminnallisiin tutkimuksiin.

SH-SY5Y-solut kasvavat sekä tarttuvasti että suspensiossa muodostaen jakautumisen aikana klustereita, jotka eroavat merkittävästi erilaistuneiden solujen morfologiasta. Nämä erilaistumattomat solut toimivat ennen hermosolujen erilaistumista olennaisena perustana neurotieteellisille tutkimuksille.

SH-SY5Y-solujen neuronaalinen erilaistuminen, joka muuttaa ne hermosolumalleiksi, jotka muistuttavat erilaisia toiminnallisia hermosoluja, saavutetaan biokemiallisilla muuntumisprosesseilla, joihin liittyy asteittainen seerumin puute, retinoiinihappo, neurotrofiset tekijät, kuten aivoista peräisin oleva neurotrofinen tekijä, ja solunulkoisen matriisin proteiinit. Tämä erilaistuminen on ratkaisevan tärkeää hermosolujen merkkiaineiden tutkimisessa ja neurotoksikologisessa tutkimuksessa, joka koskee erityisesti orgaanisten epäpuhtauksien vaikutusta ihmisen hermosolujen kaltaisiin soluihin.

SH-SY5Y-neuroblastoomasolujen, jotka tunnetaan ensisijaisesti dopaminergisistä ominaisuuksistaan, neurobiologiaa voidaan tutkia kolinergisten ominaisuuksien osalta tietyissä erilaistumisolosuhteissa. Vaikka nämä solut saattavat ilmentää asetyylikoliiniesteraasi, mikä viittaa jonkinasteiseen kolinergiseen aktiivisuuteen, niiden hyöty kolinergisen neurotransmission tutkimisessa on vähäisempi verrattuna niiden rooliin dopaminergisen järjestelmän tutkimuksessa.

Neurotoksikologisena mallina SH-SY5Y-neuroblastoomasolulinja on tärkeä neurotoksikologisten tutkimusten kannalta olennaisten yhdisteiden vaikutusten tutkimisessa asetyylikoliiniesteraasi- ja butyylikoliiniesteraasiaktiivisuuteen. Sy5y-solulinjan osuus neurodegeneratiivisiin sairauksiin liittyvien biokemiallisten reittien ymmärtämisessä sekä sen rooli dopaminergisten ja kolinergisten järjestelmien toiminnallisissa tutkimuksissa korostavat sen arvoa neurotieteellisessä tutkimuksessa.

Organism Ihminen

Tissue Luuydin

Disease Neuroblastooma

Metastatic site Luuydin

Synonyms SH-Sy5y, SHSY5Y, SHSY-5Y, SK-SH-SY5Y, SY5Y, SH-SY5Y Vanhempien vanhemmat

Ominaisuudet

Age 4 vuotta

SH-SY5Y-solut | 300154

Gender Nainen

Morphology Solut kasvavat neuroblastisten solujen klustereina, joissa on useita lyhyitä, hienoja solujatkoksia (neuriitteja). Solut aggregoituvat, muodostavat rykelmiä ja kelluvat. Konfluenttia monokerrosta ei muodostu.

Cell type Neuroblastit

Growth properties Löyhästi kiinni ja muodostavat kokkareita suurella solutiheydellä

Säätelytiedot

Citation SH-SY5Y (Cytionin luettelonumero 300154)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0019

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic Muodostaa kasvaimia nude-hiirissä noin 3-4 viikon kuluessa.

Karyotype SH-SY5Y-solujen sytogeneettistä maisemaa leimaavat monimutkaiset kromosomipoikkeavuudet, erityisesti kromosomien modaalin lukumäärä 47, mukaan lukien 1q:n trisomia, joka johtuu kromosomissa 1 olevasta erityisestä insertiosta. Tämä geneettinen tausta on ratkaisevan tärkeä SH-SY5Y-solujen solubiologian ja onkogeeneen potentiaalin ymmärtämisen kannalta, mikä tekee niistä monipuolisen mallin neurotieteellisessä tutkimuksessa, erityisesti neurologisen kehityksen, neurotoksisuuden ja neurodegeneratiivisten sairauksien tutkimuksessa.

Käsittely

Culture Medium Sekoita EMEM ja Ham's F12 suhteessa 50:50 (Cytionin artikkelinumerot 820100a ja 820600a)

Supplements Lisää väliaineeseen 15 % FBS ja 1 % NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

SH-SY5Y-solut | 300154

Subculturing Nämä solut kasvavat kelluvien ja tarttuvien solujen sekoituksena. Poista väliaine kelluvien solujen kanssa ja ota solut talteen sentrifugoimalla. Huuhtelee tarttuvat solut PBS:llä, jossa ei ole kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml PBS:ää T25-soluviljelypulloissa, 5-10 ml T75-soluviljelypulloissa). Lisää Accutase (1-2 ml T25-soluviljelypulloa kohti, 2,5 ml T75-soluviljelypulloa kohti), solulevyn on peitettävä kokonaan. Inkuboidaan 37 asteessa 10 minuuttia. Yhdistetään edellä talteenotettuihin kelluviin soluihin. Solut resuspendoidaan varovasti, väliaineen lisääminen on vapaaehtoista mutta ei välttämätöntä, ja annostellaan uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.

Seeding density Kylvötiheys sulatuksen jälkeen 6×10^4 solua/cm², kylvä 1x T25-soluviljelypulloon. Solut tulevat 80-90 % konfluentiksi 1-2 viikon kuluessa. Kun solut lisääntyvät voimakkaasti, kylvä solut tiheydeksi $1-2 \times 10^4$ solua/cm².

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

SH-SY5Y-solut | 300154

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

SH-SY5Y-solut | 300154

STR-profiili

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

HLA-alleelit

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