

## Komórki SK-N-AS | 305272

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa SK-N-AS pochodzi z neuroblastomy ludzkiego dziecka i jest szeroko stosowana w badaniach neuroonkologicznych. Neuroblastoma to rodzaj nowotworu, który powstaje z komórek grzebienia nerwowego i dotyka głównie dzieci. Komórki SK-N-AS stanowią cenny model do badania biologii i leczenia nerwiaka niedojrzałego, w szczególności w zrozumieniu mechanizmów molekularnych napędzających rozwój i progresję nowotworu. Ta linia komórkowa charakteryzuje się stosunkowo niezróżnicowanym stanem, co czyni ją przydatną do badania szlaków zaangażowanych w różnicowanie neuronów i złośliwość.

Komórki SK-N-AS wykazują przylegający wzór wzrostu i posiadają morfologię neuroblastyczną. Wyrażają różne markery związane z komórkami grzebienia nerwowego i neuroblastoma, w tym enolazę specyficzną dla neuronów (NSE) i chromograninę A. Naukowcy wykorzystują komórki SK-N-AS do badania zmian genetycznych i epigenetycznych związanych z neuroblastoma, takich jak amplifikacja MYCN i mutacje ALK. Komórki te są również wykorzystywane w wysokoprzepustowych badaniach przesiewowych leków i testach przedklinicznych nowych środków chemioterapeutycznych i terapii celowanych. Dodatkowo, komórki SK-N-AS są wykorzystywane do badania mechanizmów oporności na konwencjonalne terapie i opracowywania strategii przewycięzania takiej oporności. Znaczenie komórek SK-N-AS w badaniach nad neuroblastomą podkreśla ich znaczenie w pogłębianiu naszej wiedzy na temat tego agresywnego nowotworu wieku dziecięcego oraz w ulepszaniu podejść terapeutycznych dla chorych pacjentów.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Mózg

**Disease** Neuroblastoma

**Metastatic site** Szpik kostny

**Synonyms** SKN-AS, SKNAS

## Charakterystyka

**Age** 6 lat

**Gender** Kobieta

**Ethnicity** Europejski

**Morphology** Nabłonek

**Cell type** Neuroblast

**Komórki SK-N-AS | 305272****Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** SK-N-AS (numer katalogowy Cytion 305272)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1700**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Mutational profile** Mutacja: NRAS, p.Gln61Lys (c.181C>A), heterozygotyczna**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS, 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:5 do 1:10**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

**Komórki SK-N-AS | 305272****Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 przepływowej, 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  $300 \times g$  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**

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

**Flask Coating**

Brak

**Freezing Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki SK-N-AS | 305272

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### 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.