

Komórki SH-SY5Y | 300154**Informacje ogólne****Description**

Komórki SH-SY5Y, podklon pochodzący z linii komórek nowotworowych neuroblastoma SK-N-SH, są cennym modelem komórkowym dla zaburzeń neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona i Alzheimer. Linia komórkowa SK-N-SH została utworzona w 1970 roku z biopsji przerzutowego guza kości od 4-letniego pacjenta z rakiem. Ludzka linia komórkowa SH-SY5Y oferuje unikalne źródło komórek do badań funkcjonalnych w neurobiologii i badaniach nad chorobami neurodegeneracyjnymi.

Komórki SH-SY5Y rosną zarówno przylegająco, jak i w zawiesinie, tworząc skupiska podczas podziału, które znacznie różnią się od morfologii zróżnicowanych komórek. Te niezróżnicowane komórki, zanim przejdą różnicowanie neuronalne, służą jako niezbędna podstawa do badań neuronaukowych.

Różnicowanie neuronalne komórek SH-SY5Y, które przekształca je w modele komórek neuronalnych przypominające różne funkcjonalne neurony, osiąga się poprzez biochemiczne procesy interkonwersji obejmujące stopniowe pozbawienie surowicy, kwas retinowy, czynniki neurotroficzne, takie jak czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego i białka macierzy zewnątrzkomórkowej. To zróżnicowanie jest kluczowe dla badania markerów neuronalnych i prowadzenia badań neurotoksykologicznych, zwłaszcza dotyczących wpływu zanieczyszczeń organicznych na ludzkie komórki podobne do neuronów.

Neurobiologia komórek neuroblastoma SH-SY5Y, znanych głównie ze swoich właściwości dopaminergicznych, może być badana pod kątem właściwości cholinergicznych w określonych warunkach różnicowania. Chociaż komórki te mogą wykazywać ekspresję acetylocholinoesterazy, co wskazuje na pewną aktywność cholinergiczną, ich użyteczność w badaniu neuroprzeżywalności cholinergicznego jest mniej wyraźna w porównaniu z ich rolą w badaniach układu dopaminergicznego.

Jako model neurotoksykologiczny, linia komórkowa neuroblastomy SH-SY5Y odgrywa kluczową rolę w badaniu wpływu związków na aktywność acetylocholinoesterazy i butyrylocholinoesterazy, co jest niezbędne w badaniach neurotoksykologicznych. Wkład linii sy5y w zrozumienie szlaków biochemicznych zaangażowanych w choroby neurodegeneracyjne, w połączeniu z jej rolą w badaniach funkcjonalnych układów dopaminergicznych i cholinergicznych, podkreśla jej wartość w badaniach neurobiologicznych.

Organism Człowiek**Tissue** Szpik kostny**Disease** Neuroblastoma**Metastatic site** Szpik kostny**Synonyms** SH-Sy5y, SHSY5Y, SHSY-5Y, SK-SH-SY5Y, SY5Y, SH-SY5Y Rodzicielskie**Charakterystyka****Age** 4 lata

Komórki SH-SY5Y | 300154**Gender** Kobieta**Morphology** Komórki rosną jako skupiska komórek neuroblastycznych z licznymi, krótkimi, cienkimi wyrostkami komórkowymi (neurytami). Komórki agregują, tworzą grudki i unoszą się na powierzchni. Nie tworzy się zwarta monowarstwa.**Cell type** Neuroblast**Growth properties** Luźno przylegają i tworzą grudki przy wysokiej gęstości komórek**Dane regulacyjne****Citation** SH-SY5Y (numer katalogowy Cytion 300154)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0019**Depositor** Biedler**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tworzy guzy u nagich myszy w ciągu ok. 3-4 tygodni.**Karyotype** Krajobraz cytogenetyczny komórek SH-SY5Y charakteryzuje się złożonymi aberracjami chromosomowymi, w szczególności z modalną liczbą chromosomów 47, w tym trisomią 1q z powodu charakterystycznej insercji w chromosomie 1. To tło genetyczne ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia biologii komórkowej i potencjału onkogenego komórek SH-SY5Y, czyniąc je wszechstronnym modelem w badaniach neuronaukowych, szczególnie w dziedzinie neurorozwoju, neurotoksyczności i badań chorób neurodegeneracyjnych.**Obsługa****Culture Medium** Należy zmieszać EMEM i Ham's F12 w proporcji 50:50 (numery artykułów Cytion 820100a i 820600a)**Supplements** Uzupelnij pożywkę 15% FBS i 1% NEAA.**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki SH-SY5Y | 300154

Subculturing Komórki te rosną jako mieszanina komórek pływających i przylegających. Usunąć pożywkę z pływającymi komórkami i odzyskać komórki przez odwirowanie. Przepłucz przylegające komórki używając PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS dla T25, 5-10 ml dla kolb do hodowli komórkowych T75). Dodaj Accutase (1-2 ml na kolbę T25, 2,5 ml na kolbę T75), arkusz komórek musi być całkowicie przykryty. Inkubować w temperaturze 37 stopni Celsjusza przez 10 minut. Połączyć z pływającymi komórkami odzyskanymi powyżej. Ostrożnie ponownie zawiesić komórki, dodanie pożywki jest opcjonalne, ale nie jest konieczne, i dozować do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.

Seeding density Gęstość wysiewu po rozmrożeniu 6×10^4 komórek/cm², wysiewać do kolby hodowlanej 1x T25. Komórki osiągną 80-90% konfluencji w ciągu 1-2 tygodni. Gdy komórki zaczną intensywnie się namnażać, wysiewać je w gęstości $1-2 \times 10^4$ komórek/cm².

Fluid renewal 1 do 2 razy w tygodniu

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.

Komórki SH-SY5Y | 300154

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 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 zawieszonych, 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% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

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 fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki SH-SY5Y | 300154

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 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 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °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.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11
D13S317: 11
D16S539: 8,13
D5S818: 12
D7S820: 7,10
TH01: 7,10
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

Komórki SH-SY5Y | 300154

Allele 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