

Células SK-N-AS | 305272**Informações gerais****Description**

A linha celular SK-N-AS é derivada de um neuroblastoma de uma criança humana e é amplamente utilizada na investigação neuro-oncológica. O neuroblastoma é um tipo de cancro que surge das células da crista neural e afecta predominantemente as crianças. As células SK-N-AS constituem um modelo valioso para o estudo da biologia e do tratamento do neuroblastoma, nomeadamente para a compreensão dos mecanismos moleculares que determinam o desenvolvimento e a progressão do tumor. Esta linha celular é caracterizada pelo seu estado relativamente indiferenciado, o que a torna útil para examinar as vias envolvidas na diferenciação neuronal e na malignidade.

As células SK-N-AS exibem um padrão de crescimento aderente e possuem uma morfologia neuroblástica. Expressam vários marcadores associados às células da crista neural e ao neuroblastoma, incluindo a enolase específica dos neurónios (NSE) e a cromogranina A. Os investigadores utilizam as células SK-N-AS para investigar as alterações genéticas e epigenéticas associadas ao neuroblastoma, como a amplificação de MYCN e as mutações ALK. Estas células são também utilizadas no rastreio de medicamentos de elevado rendimento e em ensaios pré-clínicos de novos agentes quimioterapêuticos e terapias direcionadas. Além disso, as células SK-N-AS são utilizadas para estudar os mecanismos de resistência às terapias convencionais e para desenvolver estratégias para ultrapassar essa resistência. A relevância das células SK-N-AS na investigação do neuroblastoma sublinha a sua importância para o avanço da nossa compreensão deste agressivo cancro infantil e para a melhoria das abordagens terapêuticas para os doentes afectados.

Organism Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Neuroblastoma**Metastatic site** Medula óssea**Synonyms** SKN-AS, SKNAS**Caraterísticas****Age** 6 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Europeu**Morphology** Epitelial**Cell type** Neuroblastos

Células SK-N-AS | 305272

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation SK-N-AS (número de catálogo Cytion 305272)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1700

Dados biomoleculares

Tumorigenic Sim, em ratinhos nus

Mutational profile Mutação: NRAS, p.Gln61Lys (c.181C>A), heterozigótico

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Suplementar o meio com 10% de FBS, 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

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.

Split ratio Recomenda-se uma proporção de 1:5 a 1:10

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Células SK-N-AS | 305272

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.

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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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

Células SK-N-AS | 305272

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.

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.