

**Bunky SH-SY5Y | 300154****Všeobecné informácie****Description**

Bunky SH-SY5Y, subklon odvodený od neuroblastómovej bunkovej línie SK-N-SH, sú cenným bunkovým modelom pre neurodegeneratívne poruchy, ako je Parkinsonova a Alzheimerova choroba. Bunková línia SK-N-SH bola vytvorená v roku 1970 z biopsie metastázujúceho kostného nádoru 4-ročného pacienta s rakovinou. Ľudská bunková línia SH-SY5Y ponúka jedinečný zdroj buniek na funkčné štúdie v neurobiológii a výskume neurodegeneratívnych ochorení.

Bunky SH-SY5Y rastú adherentne aj v suspenzii a počas delenia vytvárajú zhľuky, ktoré sa výrazne líšia od morfológie diferencovaných buniek. Tieto nediferencované bunky pred tým, ako prejdú neuronálnou diferenciáciou, slúžia ako základný podklad pre neurovedecké štúdie.

Neuronálna diferenciácia buniek SH-SY5Y, ktorá ich mení na modely neurónových buniek pripomínajúce rôzne funkčné neuróny, sa dosahuje prostredníctvom biochemických interkonverzných procesov zahŕňajúcich postupnú depriváciu séra, kyselinu retinovú, neurotrofické faktory, ako je neurotrofický faktor odvodený od mozgu, a proteíny extracelulárnej matrix. Táto diferenciácia je rozhodujúca pre štúdium neuronálnych markerov a vykonávanie neurotoxikologického výskumu, najmä pokiaľ ide o vplyv organických znečisťujúcich látok na ľudské bunky podobné neurónom.

Neurobiológia neuroblastómových buniek SH-SY5Y, ktoré sú známe predovšetkým pre svoje dopaminergné vlastnosti, sa môže skúmať z hľadiska cholinergných vlastností za špecifických diferenciačných podmienok. Hoci tieto bunky môžu exprimovať acetylcholinesterázu, čo svedčí o určitej cholinergnej aktivite, ich využiteľnosť pri štúdiu cholinergnej neurotransmisie je menej výrazná v porovnaní s ich úlohou pri štúdiu dopaminergného systému.

Ako neurotoxikologický model je neuroblastómová bunková línia SH-SY5Y užitočná pri skúmaní účinkov zlúčenín na aktivity acetylcholinesterázy a butyrylcholinesterázy, ktoré sú nevyhnutné pre neurotoxikologické štúdie. Prínos línie sy5y k pochopeniu biochemických dráh, ktoré sa podieľajú na neurodegeneratívnych ochoreniach, spolu s jej úlohou pri funkčných štúdiách dopaminergných a cholinergných systémov zdôrazňuje jej hodnotu v neurovedeckom výskume.

**Organism** Ľudské**Tissue** Kostná dreň**Disease** Neuroblastóm**Metastatic site** Kostná dreň**Synonyms** SH-Sy5y, SHSY5Y, SHSY-5Y, SK-SH-SY5Y, SY5Y, SH-SY5Y Rodič**Charakteristika****Age** 4 roky

**Bunky SH-SY5Y | 300154****Gender** Ženy**Morphology** Bunky rastú ako zhľuky neuroblastických buniek s mnohými krátkymi a jemnými bunkovými výbežkami (neuritmi). Bunky sa agregujú, vytvárajú zhľuky a vznášajú sa. Nevytvára sa splývajúca monovrstva.**Cell type** Neuroblast**Growth properties** Volne priliehajú a pri vysokej hustote buniek tvoria zhľuky**Regulačné údaje****Citation** SH-SY5Y (katalógové číslo Cytion 300154)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0019**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Tvorí nádory u nahých myší približne za 3 - 4 týždne.**Karyotype** Cytogenetická štruktúra buniek SH-SY5Y sa vyznačuje komplexnými chromozómovými aberáciami, najmä s modálnym počtom chromozómov 47 vrátane trizómie 1q v dôsledku výraznej inzercie v chromozóme 1. Toto genetické pozadie je rozhodujúce pre pochopenie bunkovej biológie a onkogénneho potenciálu buniek SH-SY5Y, vďaka čomu sú univerzálnym modelom v neurovedeckom výskume, najmä v oblasti neurologického vývoja, neurotoxicity a neurodegeneratívnych ochorení.**Spracovanie****Culture Medium** Zmiešajte EMEM a Ham's F12 v pomere 50:50 (čísla článkov Cytion 820100a a 820600a)**Supplements** Doplňte médium o 15 % FBS a 1 % NEAA.**Dissociation Reagent** Accutase

**Bunky SH-SY5Y | 300154****Subculturing**

Tieto bunky rastú ako zmes plávajúcich a priliehajúcich buniek. Odstráňte médium s plávajúcimi bunkami a obnovte bunky centrifugáciou. Adherentné bunky opláchnite pomocou PBS bez vápnika a horčíka (3 - 5 ml PBS pre banky T25, 5 - 10 ml pre banky T75). Pridajte Accutase (1 - 2 ml na T25, 2,5 ml na banku s bunkovou kultúrou T75), bunkový list musí byť úplne pokrytý. Inkubujte pri teplote 37 °C počas 10 minút. Kombinujte s plávajúcimi bunkami získanými vyššie. Bunky opatrne resuspendujte, prídanie média je voliteľné, ale nie je potrebné, a rozmiestnite ich do nových baniek, ktoré obsahujú čerstvé médium.

**Seeding density**

Hustota výsevu po rozmrazení  $6 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>, výsev do 1x T25 kultivačnej fľaše. Bunky dosiahnu 80-90 % konfluencie v priebehu 1-2 týždňov. Akonáhle sa bunky začnú intenzívne množiť, výsev buniek s hustotou 1 - 2 x10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup>.

**Fluid renewal**

1 až 2-krát týždenne

**Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

## Bunky SH-SY5Y | 300154

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating** Žiadne

**Freezing Procedure** Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping Conditions** Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage Conditions** Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

**Sterility** Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

**Bunky SH-SY5Y | 300154**

**STR profile**

**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

**Alely 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