Product sheet

Клетки SK-N-LO | 300400

Обща информация

Description	Клетъчната линия SK-N-LO е човешка невробластомна клетъчна линия, използвана в научни изследвания за изучаване на невробластома, както и на механизмите на апоптоза и сигналните пътища при рак. Тя се класифицира и като клетъчна линия на примитивен невроектодермален тумор (PNET) и носи фюжън гена EWS-FLI1, който често се среща при тумори от семейството на саркома на Юинг (ESFT). Този сливащ се ген е резултат от хромозомна транслокация и играе ключова роля в онкогенното поведение на тези туморни клетки. Клетките SK-N-LO са особено чувствителни към някои инхибитори, насочени към онкогенните сигнални пътища. Например доказано е, че инхибиторът GLI GANT61 предизвиква каспазонезависима апоптоза в SK-N-LO клетки. GANT61 нарушава транскрипцията, медиирана от GLI1 и GLI2, в сигналния път Hedgehog (Hh), който е от решаващо значение за оцеляването и пролиферацията на клетките в тази клетъчна линия. При третиране с GANT61 клетките SK-N-LO показват морфологични промени, свързани с апоптоза, като кондензация на хроматина и ядрена фрагментация. Освен това GANT61 намалява експресията на белтъци като GLI2 и survivin, които са важни за прогресията на клетъчния цикъл и оцеляването, като същевременно увеличава експресията на p21, циклино-зависим киназен инхибитор. Освен това клетките SK-N-LO са използвани за изследване на сигнализацията на опиоидните рецептори. Тези клетки са разработени така, че да експресират μ-опиоиден рецептор, което ги прави ценен модел за изследване на взаимодействието между индуцираната от опиоиди аналгезия и вътреклетъчните сигнални пътища. Например проучванията показват, че морфинът стимулира фосфорилирането на Akt в SK-N-LO клетките по пътя на PI3Kγ - процес, който може да бъде модулиран от сигналите на cAMP. Това подчертава гъвкавостта на SK-N-LO клетките при изследването както на биологията на рака, така и на неврофармакологията.
Organism	Човек
Tissue	Мозък
Disease	Примитивен невроектодермален тумор
Metastatic site	Костен мозък
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Характеристики

Age	10 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки

Клетки SK-N-LO | 300400

Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Залепване в колби с колагеново покритие

Регулаторни данни

Citation	SK-N-LO (каталожен номер 300400 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4569

Биомолекулярни данни

Karyotype	Честота на фенотипа Продукт: 0.00005

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	Препоръчва се съотношение от 1:6 до 1:12
Seeding density	3 до 4 x $10^{4\ \text{клетки}}/\text{cm}^2$

Клетки SK-N-LO | 300400

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки SK-N-LO | 300400

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
Профил на STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 8,11 **D16S539**: 12 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 11 **TH01**: 10 **TPOX**: 8,11 **vWA**: 14,17 **D3S1358**: 14,17 **D21S11**: 27, 28 **D18S51**: 12 **Penta E**: 7 **Penta D**: 9,13 **D8S1179**: 12:15 **FGA**: 25

Клетки SK-N-LO | 300400

HLA алели	**A***: '24:02:01, '29:02:01 **B***: '18:01:01, '58:01:01 **C***: '05:01:01, '07:18:01 **DRB1***: '03:01:01, '08:04:01 **DQA1***: '04:01:02, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '04:02:01 **DPB1***: '02:01:02, '13:01:01 **E**: '01:01, '01:03