Product sheet

Buňky SK-N-LO | 300400

Obecné informace

Description	Buněčná linie SK-N-LO je lidská neuroblastomová buněčná linie, která se používá ve výzkumu neuroblastomu a také ke studiu mechanismů apoptózy a nádorových signálních drah. Je také klasifikována jako buněčná linie primitivního neuroektodermálního nádoru (PNET) a nese fúzní gen EWS-FLI1, který se běžně vyskytuje u nádorů rodiny Ewingova sarkomu (ESFT). Tento fúzní gen je výsledkem chromozomální translokace a hraje klíčovou roli v onkogenním chování těchto nádorových buněk. Buňky SK-N-LO jsou obzvláště citlivé na některé inhibitory zaměřené na onkogenní signální dráhy. Bylo například prokázáno, že inhibitor GLI GANT61 vyvolává u buněk SK-N-LO apoptózu nezávislou na kaspáze. GANT61 narušuje transkripci zprostředkovanou GLI1 a GLI2 v signální dráze Hedgehog (Hh), která je u této buněčné linie rozhodující pro přežití a proliferaci buněk. Při léčbě přípravkem GANT61 vykazují buňky SK-N-LO morfologické změny spojené s apoptózou, jako je kondenzace chromatinu a fragmentace jader. GANT61 navíc snižuje expresi proteinů jako GLI2 a survivin, které jsou důležité pro progresi buněčného cyklu a přežití, a zároveň zvyšuje expresi p21, inhibitoru cyklin-dependentní kinázy. Buňky SK-N-LO byly navíc využity ke studiu signalizace opioidních receptorů. Tyto buňky byly upraveny tak, aby exprimovaly μ-opioidní receptor, což z nich činí cenný model pro zkoumání interakce mezi analgezií vyvolanou opioidy a intracelulárními signálními drahami. Studie například ukázaly, že morfin stimuluje fosforylaci Akt v buňkách SK-N-LO prostřednictvím dráhy PI3Kγ, což je proces, který lze modulovat signalizací cAMP. To poukazuje na všestrannost buněk SK-N-LO při zkoumání biologie rakoviny i neurofarmakologie.
Organism	Člověk
Tissue	Mozek
Disease	Primitivní neuroektodermální nádor
Metastatic site	Kostní dřeň
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Charakteristika

Age	10 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné

Buňky SK-N-LO | 300400

Growth properties	Adherence v baňkách potažených kolagenem

Regulační údaje

Citation	SK-N-LO (katalogové číslo Cytion 300400)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4569

Biomolekulární data

Karyotype	Frekvence fenotypu Produkt: 0.00005

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:6 až 1:12
Seeding density	3 až 4 x 10^{4} $^{\text{buněk}}/_{\text{cm}^2}$
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

Buňky SK-N-LO | 300400

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SK-N-LO | 300400

Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil 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
Alely HLA	**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