Product sheet

SK-N-LO-celler | 300400

Generel information

Description	SK-N-LO-cellelinjen er en human neuroblastom-cellelinje, der bruges i forskning til at studere neuroblastom samt mekanismer for apoptose og kræftsignalveje. Den er også klassificeret som en primitiv neuroektodermal tumor (PNET)-cellelinje og bærer EWS-FLI1-fusionsgenet, som ofte findes i tumorer i Ewings sarkomfamilie (ESFT). Dette fusionsgen er resultatet af en kromosomal translokation og spiller en nøglerolle i disse tumorcellers onkogene adfærd. SK-N-LO-celler er særligt følsomme over for visse hæmmere, der retter sig mod onkogene signalveje. For eksempel har GLI-inhibitoren GANT61 vist sig at fremkalde caspase-uafhængig apoptose i SK-N-LO-celler. GANT61 forstyrrer GLI1- og GLI2-medieret transkription i Hedgehog (Hh)-signalvejen, som er afgørende for celleoverlevelse og -spredning i denne cellelinje. Når SK-N-LO-celler behandles med GANT61, udviser de morfologiske ændringer, der er forbundet med apoptose, såsom kromatinkondensering og kernefragmentering. Desuden reducerer GANT61 udtrykket af proteiner som GLI2 og survivin, som er vigtige for cellecyklusprogression og overlevelse, mens det øger udtrykket af p21, en cyklinafhængig kinaseinhibitor. Derudover er SK-N-LO-celler blevet brugt til at studere opioidreceptorsignalering. Disse celler er blevet konstrueret til at udtrykke μ-opioidreceptoren, hvilket gør dem til en værdifuld model til undersøgelse af samspillet mellem opioidinduceret analgesi og intracellulære signalveje. For eksempel har undersøgelser vist, at morfin stimulerer Akt-phosphorylering i SK-N-LO-celler via PI3Kγ-vejen, en proces, der kan moduleres af cAMP-signalering. Dette fremhæver SK-N-LO-cellernes alsidighed i udforskningen af både kræftbiologi og neurofarmakologi.
Organism	Menneske
Tissue	Hjerne
Disease	Primitiv neuroektodermal tumor
Metastatic site	Knoglemarv
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Karakteristika

Age	10 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende

SK-N-LO-celler | 300400

Growth properties	Klæber til kollagenbelagte kolber

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Karyotype	Fænotypefrekvensprodukt: 0.00005

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	Det anbefales at bruge et blandingsforhold på 1:6 til 1:12
Seeding density	3 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen

SK-N-LO-celler | 300400

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium. 7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst. 8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

SK-N-LO-celler | 300400

Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
STR-profil	**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
HLA-alleler	**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