

SK-N-LO rakud | 300400

Üldine teave

Description

SK-N-LO rakuliin on inimese neuroblastoomi rakuliin, mida kasutatakse neuroblastoomi ning apoptoosi ja vähi signaaliradade mehhanismide uurimiseks. See liigitatakse ka primitiivse neuroektodermise kasvaja (PNET) rakuliiniks ja kannab EWS-FLI1 fusioonigeeni, mida tavaliselt leidub Ewingi sarkoomi perekonna kasvajat (ESFT). See fusioonigeen tuleneb kromosomaalsest translokatsioonist ja mängib võtmerolli nende kasvajakrakkude onkogeenses käitumises.

SK-N-LO rakud on eriti tundlikud teatavate onkogeensetele signaaliradadele suunatud inhibiitorite suhtes. Näiteks on näidatud, et GLI inhibiitor GANT61 kutsub SK-N-LO rakkudes esile kaspasist sõltumatu apoptoosi. GANT61 häirib GLI1 ja GLI2 vahendatud transkriptsiooni Hedgehogi (Hh) signaaliteel, mis on selles rakuliinis rakkude ellujäämise ja proliferatsiooni jaoks kriitilise tähtsusega. GANT61-ga ravimisel ilmnevad SK-N-LO rakkudel apoptoosiga seotud morfoloogilised muutused, nagu kromatiini kondenseerumine ja tuuma fragmenteerumine. Lisaks vähendab GANT61 selliste valkude nagu GLI2 ja survivin, mis on olulised rakutsükli progresseerumise ja ellujäämise seisukohalt, ekspressiooni, suurendades samal ajal tsükliinist sõltuva kinaasi inhibiitori p21 ekspressiooni.

Lisaks on SK-N-LO rakke kasutatud opioidireseptorite signalisatsiooni uurimiseks. Need rakud on loodud ekspresseerima μ -opioidireseptorit, mis muudab need väärtuslikuks mudeliks opioididest põhjustatud analgeesia ja rakusiseste signaaliradade vahelise koostoime uurimiseks. Näiteks on uuringud näidanud, et morfiin stimuleerib SK-N-LO rakkudes Akt fosforüülimist PI3Ky raja kaudu, mida saab moduleerida cAMP-signalisatsiooniga. See rõhutab SK-N-LO rakkude mitmekülgust nii vähibioloogia kui ka neurofarmakoloogia uurimisel.

| | |
|------------------------|--|
| Organism | Inimene |
| Tissue | Aju |
| Disease | Primitiivne neuroektodermiline kasvaja |
| Metastatic site | Luuüdi |
| Synonyms | SK-N-LO, SKN-LO, SKNLO, SKNLO |

Omadused

| | |
|-------------------|-----------------|
| Age | 10 aastat |
| Gender | Mees |
| Ethnicity | Kaukaasia |
| Morphology | Epiteelilaadsed |

SK-N-LO rakud | 300400

Growth properties Kollageeniga kaetud kolvidesse kinnituvad

Regulatiivsed andmed

Citation SK-N-LO (Cytioni katalooginumber 300400)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4569

Biomolekulaarsed andmed

Karyotype Fenotüübi sageduse toode: 0.00005

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio Soovitav on suhe 1:6 kuni 1:12

Seeding density 3 kuni 4×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

SK-N-LO rakud | 300400

Freeze medium

Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulutage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekestik ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SK-N-LO rakud | 300400**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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 alleles

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