Product sheet

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 kasvajates (ESFT). See fusioonigeen tuleneb kromosomaalsest translokatsioonist ja mängib võtmerolli nende kasvajarakkude 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 kaspaasist 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 opioidiretseptorite signalisatsiooni uurimiseks. Need rakud on loodud ekspresseerima μ-opioidiretseptorit, 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 PI3Kγ raja kaudu, mida saab moduleerida cAMP-signalisatsiooniga. See rõhutab SK-N-LO rakkude mitmekülgsust nii vähibioloogia kui ka neurofarmakoloogia uurimisel.
Organism	Inimene
Tissue	Aju
Disease	Primitiivne neuroektodermiline kasvaja
Metastatic site	Luuüdi
Synonyms	SK-N-L0, 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 kataloginumber 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 $NaHCO_3$, 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	Soovitatav on suhe 1:6 kuni 1:12
Seeding density	3 kuni 4 x 10^4 rakku/cm^2
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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid 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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil 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