Product sheet

SK-N-LO-solut | 300400

Yleisiä tietoja

Description	SK-N-LO-solulinja on ihmisen neuroblastooma-solulinja, jota käytetään tutkimuksessa neuroblastooman sekä apoptoosin mekanismien ja syövän signaalireittien tutkimiseen. Se luokitellaan myös primitiiviseksi neuroekodermikasvaimeksi (PNET), ja siinä on EWS-FLI1-fuusiogeeni, jota tavataan yleisesti Ewingin sarkooman perheen kasvaimissa (ESFT). Tämä fuusiogeeni johtuu kromosomitranslokaatiosta, ja sillä on keskeinen rooli näiden kasvainsolujen onkogeenisessä käyttäytymisessä. SK-N-LO-solut ovat erityisen herkkiä tietyille onkogeenisiin signaalireitteihin kohdistuville inhibiittoreille. Esimerkiksi GLI:n estäjän GANT61:n on osoitettu indusoivan kaspaasista riippumatonta apoptoosia SK-N-LO-soluissa. GANT61 häiritsee GLI1- ja GLI2-välitteistä transkriptiota Hedgehog (Hh) -signalointireitillä, joka on kriittinen solujen selviytymisen ja lisääntymisen kannalta tässä solulinjassa. Kun SK-N-LO-soluja hoidetaan GANT61:llä, niissä esiintyy apoptoosiin liittyviä morfologisia muutoksia, kuten kromatiinin tiivistymistä ja ytimen pirstoutumista. Lisäksi GANT61 vähentää solusyklin etenemisen ja eloonjäämisen kannalta tärkeiden proteiinien, kuten GLI2:n ja survivinin, ilmentymistä ja lisää sykliiniriippuvaisen kinaasin estäjän p21:n ilmentymistä. Lisäksi SK-N-LO-soluja on käytetty opioidireseptorin signaloinnin tutkimiseen. Nämä solut on muokattu ilmentämään μ-opioidireseptoria, mikä tekee niistä arvokkaan mallin opioidien aiheuttaman analgesian ja solunsisäisten signaalireittien välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen. Tutkimukset ovat esimerkiksi osoittaneet, että morfiini stimuloi Akt-fosforylaatiota SK-N-LO-soluissa PI3Kγ-reitin kautta, ja tätä prosessia voidaan moduloida cAMP-signaloinnilla. Tämä korostaa SK-N-LO-solujen monipuolisuutta sekä syöpäbiologian että neurofarmakologian tutkimisessa.
Organism	Ihminen
Tissue	Aivot
Disease	Primitiivinen neuroekoderminen kasvain
Metastatic site	Luuydin
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO, SKNLO

Ominaisuudet

Age	10 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen

SK-N-LO-solut | 300400

Growth properties	Tarttuvat kollageenilla päällystettyihin pulloihin

Sääntelytiedot

Citation	SK-N-LO (Cytionin luettelonumero 300400)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4569

Biomolekyylitiedot

Karyotype	Fenotyypin frekvenssituote: 0.00005

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	Suositeltava sekoitussuhde on 1:6–1:12
Seeding density	3–4 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

SK-N-LO-solut | 300400

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SK-N-LO-solut | 300400

Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
STR-profiili	**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-alleelit	**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