Product sheet

SK-N-LO sejtek | 300400

Általános információk

Description	Az SK-N-LO sejtvonal egy humán neuroblastoma sejtvonal, amelyet a kutatásban a neuroblastoma, valamint az apoptózis és a rákos jelátviteli útvonalak mechanizmusainak tanulmányozására használnak. Primitív neuroektodermális tumor (PNET) sejtvonalnak is minősül, és az EWS-FLI1 fúziós gént hordozza, amely gyakran megtalálható a Ewing-szarkóma család tumoraiban (ESFT). Ez a fúziós gén egy kromoszómatranszlokáció eredménye, és kulcsszerepet játszik e tumorsejtek onkogén viselkedésében. Az SK-N-LO sejtek különösen érzékenyek bizonyos onkogén jelátviteli utakat célzó inhibitorokra. A GLI-gátló GANT61 például bizonyítottan kaszpáz-független apoptózist indukál az SK-N-LO sejtekben. A GANT61 megzavarja a GLI1 és GLI2 által közvetített transzkripciót a Hedgehog (Hh) jelátviteli útvonalban, amely kritikus a sejtek túlélése és proliferációja szempontjából ebben a sejtvonalban. A GANT61-gyel kezelve az SK-N-LO sejtek apoptózissal összefüggő morfológiai változásokat mutatnak, mint például kromatin kondenzáció és magfragmentáció. Továbbá a GANT61 csökkenti az olyan fehérjék, mint a GLI2 és a survivin expresszióját, amelyek fontosak a sejtciklus progressziója és túlélése szempontjából, miközben növeli a p21, egy ciklinfüggő kináz inhibitor expresszióját. Ezenkívül az SK-N-LO sejteket az opioid receptorok jelátvitelének tanulmányozására is felhasználták. Ezeket a sejteket úgy alakították ki, hogy a μ-opioid receptort expresszálják, így értékes modellként szolgálnak az opioidok által kiváltott analgézia és az intracelluláris jelátviteli útvonalak közötti kölcsönhatás vizsgálatára. Vizsgálatok például kimutatták, hogy a morfium a PI3Kγ útvonalon keresztül serkenti az Akt foszforilációt az SK-N-LO sejtekben, amely folyamatot a cAMP jelátvitellel lehet modulálni. Ez rávilágít az SK-N-LO sejtek sokoldalúságára mind a rákbiológia, mind a neurofarmakológia feltárásában.
Organism	Emberi
Tissue	Agy
Disease	Primitív neuroektodermális tumor
Metastatic site	Csontvelő
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO, SKNLO

Jellemzők

Age	10 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű

SK-N-LO sejtek | 300400

Growth properties	Kollagénnel bevont lombikokban megtapadva

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

Karyotype	Fenotípus gyakorisági termék: 0.00005

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	Ajánlott arány: 1:6 és 1:12 között
Seeding density	3–4 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

SK-N-LO sejtek | 300400

Freeze medium	A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.
Thawing and Culturing Cells	1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák. 2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség. 3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad. 4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal. 5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz. 6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót. 7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében. 8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

SK-N-LO sejtek | 300400

Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
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 allélok	**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