

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 kromozómatranszlokáció 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 kaspáz-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 analgészia és az intracelluláris jelátviteli útvonalak közötti kölcsönhatás vizsgálatára. Vizsgálatok például kimutatták, hogy a morfium a PI3K 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-LO, 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 10⁴ sejt/cm²

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 krioüveget 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 $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 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 sejt-kölcsönhatás 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 / Genetikai profil / HLA**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