Product sheet

Cellule SK-N-LO | 300400

Informazioni generali

Description	La linea cellulare SK-N-LO è una linea cellulare di neuroblastoma umano utilizzata nella ricerca per studiare il neuroblastoma e i meccanismi di apoptosi e le vie di segnalazione del cancro. È anche classificata come linea cellulare di tumore neuroectodermico primitivo (PNET) e porta il gene di fusione EWS-FLI1, comunemente presente nei tumori della famiglia del sarcoma di Ewing (ESFT). Questo gene di fusione deriva da una traslocazione cromosomica e svolge un ruolo chiave nel comportamento oncogenico di queste cellule tumorali. Le cellule SK-N-LO sono particolarmente sensibili ad alcuni inibitori che colpiscono le vie di segnalazione oncogeniche. Ad esempio, l'inibitore GLI GANT61 ha dimostrato di indurre l'apoptosi indipendente dalla caspasi nelle cellule SK-N-LO. GANT61 interrompe la trascrizione mediata da GLI1 e GLI2 nella via di segnalazione Hedgehog (Hh), che è fondamentale per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare in questa linea cellulare. Quando vengono trattate con GANT61, le cellule SK-N-LO mostrano cambiamenti morfologici associati all'apoptosi, come la condensazione della cromatina e la frammentazione nucleare. Inoltre, GANT61 riduce l'espressione di proteine come GLI2 e survivin, importanti per la progressione del ciclo cellulare e la sopravvivenza, mentre aumenta l'espressione di p21, un inibitore della chinasi ciclina-dipendente. Inoltre, le cellule SK-N-LO sono state utilizzate per studiare la segnalazione dei recettori oppioidi. Queste cellule sono state modificate per esprimere il recettore μ-opioide, il che le rende un modello prezioso per studiare l'interazione tra l'analgesia indotta dagli oppioidi e le vie di segnalazione intracellulare. Ad esempio, alcuni studi hanno dimostrato che la morfina stimola la fosforilazione di Akt nelle cellule SK-N-LO attraverso la via PI3Kγ, un processo che può essere modulato dalla segnalazione di cAMP. Ciò evidenzia la versatilità delle cellule SK-N-LO nell'esplorare sia la biologia del cancro che la neurofarmacologia.
Organism	Umano
Tissue	Cervello
Disease	Tumore neuroectodermico primitivo
Metastatic site	Midollo osseo
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Caratteristiche

Age	10 anni
Gender	Uomo
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Simile all'epitelio

Cellule SK-N-LO | 300400

Growth properties	Aderente in fiasche rivestite di collagene

Dati normativi

Citation	SK-N-LO (numero di catalogo Cytion 300400)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4569

Dati biomolecolari

Karyotype	Prodotto di frequenza del fenotipo: 0.00005

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:6 a 1:12
Seeding density	Da 3 a 4 x $10^{4\ \text{cellule}}/\text{cm}^2$
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana

Cellule SK-N-LO | 300400

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 50% di terreno basale + 40% di FBS + 10% di DMSO, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crioindotto.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule SK-N-LO | 300400

Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo STR	**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
Alleli HLA	**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