Product sheet

SK-N-LO ląstelės | 300400

Bendra informacija

Description	SK-N-LO ląstelių linija - tai žmogaus neuroblastomos ląstelių linija, naudojama moksliniuose tyrimuose tiriant neuroblastomą, taip pat apoptozės mechanizmus ir vėžio signalinius kelius. Ji taip pat klasifikuojama kaip primityvaus neuroektoderminio naviko (PNET) ląstelių linija ir turi EWS-FLI1 sintezės geną, kuris dažniausiai aptinkamas Ewingo sarkomų šeimos navikuose (ESFT). Šis sintezės genas atsiranda dėl chromosominės translokacijos ir atlieka pagrindinį vaidmenį šių navikinių ląstelių onkogeninėje elgsenoje. SK-N-LO ląstelės yra ypač jautrios tam tikriems inhibitoriams, veikiantiems onkogeninius signalų kelius. Pavyzdžiui, nustatyta, kad GLI inhibitorius GANT61 SK-N-LO ląstelėse sukelia nuo kaspazės nepriklausomą apoptozę. GANT61 sutrikdo GLI1 ir GLI2 medijuojamą transkripciją Hedgehog (Hh) signaliniame kelyje, kuris yra labai svarbus šios linijos ląstelių išgyvenimui ir dauginimuisi. Veikiant GANT61, SK-N-LO ląstelėse atsiranda morfologinių pokyčių, susijusių su apoptoze, pavyzdžiui, chromatino kondensacija ir branduolio fragmentacija. Be to, GANT61 sumažina tokių baltymų, kaip GLI2 ir survivinas, kurie yra svarbūs ląstelių ciklo progresavimui ir išlikimui, raišką, o ciklinų priklausomos kinazės inhibitoriaus p21 raišką padidina. Be to, SK-N-LO ląstelės buvo panaudotos opioidinių receptorių signalizacijai tirti. Šios ląstelės buvo sukurtos taip, kad ekspresuotų μ-opioidinį receptorių, todėl jos yra vertingas modelis opioidų sukeliamos analgezijos ir viduląstelinių signalų kelių sąveikai tirti. Pavyzdžiui, tyrimai parodė, kad morfinas skatina Akt fosforilinimą SK-N-LO ląstelėse per PI3Kγ kelią, o šis procesas gali būti moduliuojamas cAMP signalais. Tai rodo SK-N-LO ląstelių universalumą tiriant ir vėžio biologiją, ir neurofarmakologiją.
Organism	Žmogus
Tissue	Smegenys
Disease	Primityvus neuroektoderminis navikas
Metastatic site	Kaulų čiulpai
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Charakteristikos

Age	10 metų
Gender	Vyras
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus

SK-N-LO ląstelės | 300400

Growth properties	Prigludę prie kolagenu dengtų kolbų

Reguliavimo duomenys

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

Biomolekuliniai duomenys

Karyotype	Fenotipo dažnis Produktas: 0.00005

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	Rekomenduojamas santykis nuo 1:6 iki 1:12
Seeding density	3–4 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

SK-N-LO ląstelės | 300400

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

SK-N-LO ląstelės | 300400

Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
STR profilis	**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 aleliai	**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