

## SK-N-LO šūnas | 300400

## Vispārīga informācija

## Description

SK-N-LO šūnu līnija ir cilvēka neuroblastomas šūnu līnija, ko izmanto pētījumos, lai pētītu neuroblastomu, kā arī apoptozes mehānismus un vēža signalizācijas ceļus. To klasificē arī kā primitīvo neuroektodermālo audzēju (PNET) šūnu līniju, un tajā ir EWS-FLI1 fusion gēns, kas bieži sastopams Jvinga sarkomu ģimenes audzējos (ESFT). Šis saplūšanas gēns rodas hromosomālas translokācijas rezultātā, un tam ir galvenā loma šo audzēja šūnu onkogēnajā uzvedībā.

SK-N-LO šūnas ir īpaši jutīgas pret noteiktiem inhibitoriem, kas iedarbojas uz onkogēniem signālu ceļiem. Piemēram, ir pierādīts, ka GLI inhibitors GANT61 SK-N-LO šūnās izraisa no kaspāzes neatkarīgu apoptozi. GANT61 izjauc GLI1 un GLI2 mediēto transkripciju Hedgehog (Hh) signalizācijas ceļā, kas ir kritiski svarīgs šūnu izdzīvošanai un proliferācijai šajā šūnu līnijā. Pēc apstrādes ar GANT61 SK-N-LO šūnās novēro morfoloģiskas izmaiņas, kas saistītas ar apoptozi, piemēram, hromatīna kondensāciju un kodola fragmentāciju. Turklāt GANT61 samazina tādu olbaltumvielu kā GLI2 un survivīna, kas ir svarīgas šūnu cikla progresēšanai un izdzīvošanai, ekspresiju, vienlaikus palielinot ciklīnneatkarīgās kināzes inhibitora p21 ekspresiju.

Turklāt SK-N-LO šūnas ir izmantotas opioīdu receptoru signalizācijas izpētei. Šīs šūnas ir konstruētas tā, lai ekspresētu  $\mu$ -opioīdu receptoru, padarot tās par vērtīgu modeli opioīdu izraisītas analģēzijas un intracelulāro signalizācijas ceļu mijiedarbības izpētei. Piemēram, pētījumi liecina, ka morfīns stimulē Akt fosforilēšanu SK-N-LO šūnās, izmantojot PI3K $\gamma$  ceļu, un šo procesu var modulēt ar cAMP signālu. Tas uzsver SK-N-LO šūnu daudzpusību gan vēža bioloģijas, gan neurofarmakoloģijas pētniecībā.

<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Smadzenes
<b>Disease</b>	Primitīvais neuroektodermālais audzējs
<b>Metastatic site</b>	Kaulu smadzenes
<b>Synonyms</b>	SK-N-LO, SKN-LO, SKN-LO

## Raksturojums

<b>Age</b>	10 gadi
<b>Gender</b>	Vīrieši
<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Morphology</b>	Epitēlijveidīgs

## SK-N-LO šūnas | 300400

**Growth properties** Adherence ar kolagēnu pārklātās kolbās

**Normatīvie dati**

**Citation** SK-N-LO (Cytion kataloga numurs 300400)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_4569

**Biomolekulārie dati**

**Karyotype** Fenotipa biežuma produkts: 0.00005

**Darbs ar**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielīpušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Split ratio** Ieteicamais proporcijas diapazons ir no 1:6 līdz 1:12

**Seeding density** 3 līdz  $4 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

## SK-N-LO šūnas | 300400

**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**SK-N-LO šūnas | 300400****Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA****Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

**STR profils**

**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 alēles**

**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