Product sheet

SK-N-LO šūnas | 300400

Vispārīga informācija

Description	SK-N-LO šūnu līnija ir cilvēka neiroblastomas šūnu līnija, ko izmanto pētījumos, lai pētītu neiroblastomu, kā arī apoptozes mehānismus un vēža signalizācijas ceļus. To klasificē arī kā primitīvo neiroektodermālo 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 μ-opioīdu receptoru, padarot tās par vērtīgu modeli opioīdu izraisītas analgēzijas un intracelulāro signalizācijas ceļu mijiedarbības izpētei. Piemēram, pētījumi liecina, ka morfīns stimulē Akt fosforilēšanu SK-N-LO šūnās, izmantojot PI3Kγ ceļu, un šo procesu var modulēt ar cAMP signālu. Tas uzsver SK-N-LO šūnu daudzpusību gan vēža bioloģijas, gan neirofarmakoloģijas pētniecībā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Primitīvais neiroektodermālais audzējs
Metastatic site	Kaulu smadzenes
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKN-LO

Raksturojums

Age	10 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	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 $NaHCO_3$, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām 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 x 10^4 šūnas/cm^2
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 °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°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 x 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°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °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 šķidruma 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 slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

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