Product sheet

SK-N-LO-celler | 300400

Generell informasjon

Description	SK-N-LO-cellelinjen er en human nevroblastomcellelinje som brukes i forskning for å studere nevroblastom samt mekanismer for apoptose og kreftsignalveier. Den er også klassifisert som en primitiv nevroektodermal tumor (PNET)-cellelinje og bærer fusjonsgenet EWS-FLI1, som ofte finnes i Ewings sarkomfamiliesvulster (ESFT). Dette fusjonsgenet er resultatet av en kromosomal translokasjon og spiller en nøkkelrolle i den onkogene atferden til disse tumorcellene. SK-N-LO-celler er spesielt følsomme for visse hemmere som retter seg mot onkogene signalveier. For eksempel har GLI-hemmeren GANT61 vist seg å indusere caspase-uavhengig apoptose i SK-N-LO-celler. GANT61 forstyrrer GLI1- og GLI2-mediert transkripsjon i Hedgehog (Hh)-signalveien, som er avgjørende for celleoverlevelse og -spredning i denne cellelinjen. Når SK-N-LO-celler behandles med GANT61, viser de morfologiske endringer som er assosiert med apoptose, slik som kromatinkondensering og kjernefragmentering. Videre reduserer GANT61 uttrykket av proteiner som GLI2 og survivin, som er viktige for cellesyklusprogresjon og overlevelse, samtidig som det øker uttrykket av p21, en syklinavhengig kinasehemmer. I tillegg har SK-N-LO-celler blitt brukt til å studere opioidreseptorsignalering. Disse cellene er konstruert slik at de uttrykker μ-opioidreseptoren, noe som gjør dem til en verdifull modell for å undersøke samspillet mellom opioidindusert analgesi og intracellulære signalveier. Studier har for eksempel vist at morfin stimulerer Akt-fosforylering i SK-N-LO-celler via PI3Kγ-signalveien, en prosess som kan moduleres av cAMP-signalering. Dette understreker SK-N-LO-cellenes allsidighet når det gjelder å utforske både kreftbiologi og nevrofarmakologi.
Organism	Menneskelig
Tissue	Hjerne
Disease	Primitiv nevroektodermal tumor
Metastatic site	Benmarg
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Kjennetegn

Age	10 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende

SK-N-LO-celler | 300400

Growth properties	Fester seg i kollagenbelagte kolber

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Karyotype	Fenotypefrekvensprodukt: 0.00005

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:6 til 1:12 anbefales
Seeding density	3 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

SK-N-LO-celler | 300400

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

SK-N-LO-celler | 300400

Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
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-alleler	**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