Product sheet

Komórki SK-N-LO | 300400

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa SK-N-LO to ludzka linia komórkowa neuroblastoma wykorzystywana w badaniach nad neuroblastomą, a także mechanizmami apoptozy i szlakami sygnalizacji nowotworowej. Jest również klasyfikowana jako linia komórkowa prymitywnego guza neuroektodermalnego (PNET) i jest nosicielem genu fuzyjnego EWS-FLI1, powszechnie występującego w guzach z rodziny mięsaka Ewinga (ESFT). Ten gen fuzyjny wynika z translokacji chromosomalnej i odgrywa kluczową rolę w onkogennym zachowaniu tych komórek nowotworowych. Komórki SK-N-LO są szczególnie wrażliwe na niektóre inhibitory ukierunkowane na onkogenne szlaki sygnałowe. Na przykład wykazano, że inhibitor GLI GANT61 indukuje apoptozę niezależną od kaspaz w komórkach SK-N-LO. GANT61 zakłóca transkrypcję za pośrednictwem GLI1 i GLI2 w szlaku sygnałowym Hedgehog (Hh), który ma kluczowe znaczenie dla przeżycia i proliferacji komórek tej linii komórkowej. Pod wpływem GANT61 komórki SK-N-LO wykazują zmiany morfologiczne związane z apoptozą, takie jak kondensacja chromatyny i fragmentacja jądra. Co więcej, GANT61 zmniejsza ekspresję białek takich jak GLI2 i surwiwina, które są ważne dla progresji cyklu komórkowego i przeżycia, jednocześnie zwiększając ekspresję p21, inhibitora kinazy zależnej od cyklin. Dodatkowo, komórki SK-N-LO zostały wykorzystane do badania sygnalizacji receptorów opioidowych. Komórki te zostały zaprojektowane do ekspresji receptora opioidowego μ, co czyni je cennym modelem do badania interakcji między analgezją indukowaną opioidami a wewnątrzkomórkowymi szlakami sygnalizacyjnymi. Na przykład, badania wykazały, że morfina stymuluje fosforylację Akt w komórkach SK-N-LO poprzez szlak PI3Kγ, proces, który może być modulowany przez sygnalizację cAMP. Podkreśla to wszechstronność komórek SK-N-LO w badaniu zarówno biologii nowotworów, jak i neurofarmakologii.
Organism	Człowiek
Tissue	Mózg
Disease	Pierwotny guz neuroektodermalny
Metastatic site	Szpik kostny
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Charakterystyka

Age	10 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka

Komórki SK-N-LO | 300400

Growth properties	Przylegają do kolb pokrytych kolagenem

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Karyotype	Produkt częstotliwości fenotypu: 0.00005

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:6 do 1:12
Seeding density	3 do 4 x 10^{4} komórek/cm^{2}
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

Komórki SK-N-LO | 300400

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
Thawing and Culturing Cells	1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu. 2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla. 3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu. 4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem. 5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając. 6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania. 7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek. 8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki SK-N-LO | 300400

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil 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
Allele 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