

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 onkogenym 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. Ponadto 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 analgezą indukowaną opioidami a wewnątrzkomórkowymi szlakami sygnalizacyjnymi. Na przykład, badania wykazały, że morfina stymuluje fosforylację Akt w komórkach SK-N-LO poprzez szlak PI3K, 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-LO, 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 Uzuppełnić 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 10⁴ komórek/cm²

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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA**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