Product sheet

Células SK-N-LO | 300400

Informações gerais

Description	A linha celular SK-N-LO é uma linha celular de neuroblastoma humano utilizada em investigação para estudar o neuroblastoma, bem como os mecanismos de apoptose e as vias de sinalização do cancro. É também classificada como uma linha celular de tumor neuroectodérmico primitivo (PNET) e é portadora do gene de fusão EWS-FLI1, comummente encontrado nos tumores da família do sarcoma de Ewing (ESFT). Este gene de fusão resulta de uma translocação cromossómica e desempenha um papel fundamental no comportamento oncogénico destas células tumorais. As células SK-N-LO são particularmente sensíveis a certos inibidores que visam as vias de sinalização oncogénicas. Por exemplo, o inibidor de GLI GANT61 demonstrou induzir apoptose independente de caspase nas células SK-N-LO. O GANT61 interrompe a transcrição mediada por GLI1 e GLI2 na via de sinalização Hedgehog (Hh), que é crítica para a sobrevivência e proliferação celular nesta linha celular. Quando tratadas com GANT61, as células SK-N-LO exibem alterações morfológicas associadas à apoptose, como a condensação da cromatina e a fragmentação nuclear. Além disso, o GANT61 reduz a expressão de proteínas como GLI2 e survivin, que são importantes para a progressão e sobrevivência do ciclo celular, enquanto aumenta a expressão de p21, um inibidor da quinase dependente de ciclina. Além disso, as células SK-N-LO foram utilizadas para estudar a sinalização dos receptores opióides. Estas células foram concebidas para expressar o recetor μ-opióide, o que as torna um modelo valioso para investigar a interação entre a analgesia induzida por opióides e as vias de sinalização intracelular. Por exemplo, estudos demonstraram que a morfina estimula a fosforilação da Akt nas células SK-N-LO através da via PI3Kγ, um processo que pode ser modulado pela sinalização do AMPc. Isto realça a versatilidade das células SK-N-LO na exploração da biologia do cancro e da neurofarmacologia.
Organism	Humano
Tissue	Cérebro
Disease	Tumor neuroectodérmico primitivo
Metastatic site	Medula óssea
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Caraterísticas

Age	10 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial

Células SK-N-LO | 300400

Growth properties	Aderente em frascos revestidos com colagénio

Dados regulamentares

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

Dados biomoleculares

Karyotype	Produto de frequência fenotípica: 0.00005

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	Recomenda-se uma proporção de 1:6 a 1:12
Seeding density	3 a 4 x $10^{4\ \text{células}}/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Células SK-N-LO | 300400

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata. 3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo. 4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir. 5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente. 6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual. 7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células. 8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum

Células SK-N-LO | 300400

Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.
Perfil 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**: 12h15 **FGA**: 25

Células SK-N-LO | 300400

Alelos 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