

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, comumente encontrado nos tumores da família do sarcoma de Ewing (ESFT). Este gene de fusão resulta de uma translocação cromossômica 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 PI3K γ , 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-LO, 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 10⁴ células/cm²

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 otimizados 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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 / Perfil genético / HLA

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 inspeções 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