

Bunky SK-N-LO | 300400**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia SK-N-LO je ľudská neuroblastómová bunková línia používaná vo výskume na štúdium neuroblastómu, ako aj mechanizmov apoptózy a signálnych dráh rakoviny. Je tiež klasifikovaná ako bunková línia primitívneho neuroektodermálneho nádoru (PNET) a nesie fúzny gén EWS-FLI1, ktorý sa bežne vyskytuje v nádoroch rodiny Ewingovho sarkómu (ESFT). Tento fúzny gén je výsledkom chromozomálnej translokácie a hrá kľúčovú úlohu v onkogénnom správaní týchto nádorových buniek.

Bunky SK-N-LO sú obzvlášť citlivé na určité inhibítory zamerané na onkogénne signálne dráhy. Napríklad sa ukázalo, že inhibítor GLI GANT61 vyvoláva v bunkách SK-N-LO apoptózu nezávislú od kaspázy. GANT61 narúša transkripciu sprostredkovanú GLI1 a GLI2 v signálnej dráhe Hedgehog (Hh), ktorá je rozhodujúca pre prežitie a proliferáciu buniek v tejto bunkovej línii. Pri liečbe GANT61 vykazujú bunky SK-N-LO morfológické zmeny spojené s apoptózou, ako je kondenzácia chromatinu a jadrová fragmentácia. Okrem toho GANT61 znižuje expresiu proteínov ako GLI2 a survivín, ktoré sú dôležité pre progresiu bunkového cyklu a prežívanie, a zároveň zvyšuje expresiu p21, inhibítora cyklín-dependentnej kinázy.

Okrem toho sa bunky SK-N-LO využili na štúdium signalizácie opioidných receptorov. Tieto bunky boli upravené tak, aby exprimovali μ -opioidný receptor, čo z nich robí cenný model na skúmanie interakcie medzi opioidmi indukovanou analgéziou a vnútrobunkovými signálnymi dráhami. Štúdie napríklad ukázali, že morfín stimuluje fosforyláciu Akt v bunkách SK-N-LO prostredníctvom dráhy PI3K γ , čo je proces, ktorý možno modulovať signalizáciou cAMP. To poukazuje na všestrannosť buniek SK-N-LO pri skúmaní biológie rakoviny aj neurofarmakológie.

| | |
|------------------------|------------------------------------|
| Organism | Ľudské |
| Tissue | Mozog |
| Disease | Primitívny neuroektodermálny nádor |
| Metastatic site | Kostná dreň |
| Synonyms | SK-N-LO, SKN-LO, SKNLO |

Charakteristika

| | |
|-------------------|-----------------|
| Age | 10 rokov |
| Gender | Muži |
| Ethnicity | Kaukazský |
| Morphology | Epitelu podobné |

Bunky SK-N-LO | 300400

Growth properties Priľnavosť v kolagénom potiahnutých bankách

Regulačné údaje

Citation SK-N-LO (katalógové číslo Cytion 300400)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4569

Biomolekulárne údaje

Karyotype Produkt frekvencie fenotypu: 0.00005

Spracovanie

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Split ratio Odporúča sa pomer 1:6 až 1:12

Seeding density 3 až 4 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Bunky SK-N-LO | 300400

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky SK-N-LO | 300400**Shipping Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

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

Alely 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