Product sheet

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 morfologické zmeny spojené s apoptózou, ako je kondenzácia chromatínu 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 PI3Kγ, 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-L0, 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	Doplňte 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 odstreďujte 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 10^4 buniek/cm^2
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 kryo.
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 °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 °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 x 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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 a molekulárna analýza

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