Product sheet

Клітини SK-N-LO | 300400

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія SK-N-LO - це клітинна лінія нейробластоми людини, яка використовується в дослідженнях для вивчення нейробластоми, а також механізмів апоптозу і сигнальних шляхів раку. Вона також класифікується як примітивна нейроектодермальна пухлина (PNET) і несе в собі ген злиття EWS-FLI1, який часто зустрічається в пухлинах сімейства саркоми Юінга (ESFT). Цей ген злиття є результатом хромосомної транслокації і відіграє ключову роль в онкогенній поведінці цих пухлинних клітин. Клітини SK-N-LO особливо чутливі до певних інгібіторів, спрямованих на онкогенні сигнальні шляхи. Наприклад, було показано, що інгібітор GLI GANT61 індукує каспазо-незалежний апоптоз у клітинах SK-N-LO. GANT61 порушує GLI1 і GLI2-опосередковану транскрипцію в сигнальному шляху Hedgehog (Hh), який є критично важливим для виживання і проліферації клітин цієї клітинної лінії. При обробці GANT61 клітини SK-N-LO демонструють морфологічні зміни, пов'язані з апоптозом, такі як конденсація хроматину та фрагментація ядер. Крім того, GANT61 знижує експресію таких білків, як GLI2 і сурвівін, які є важливими для прогресування клітинного циклу і виживання, одночасно підвищуючи експресію p21, інгібітора циклін-залежної кінази. Крім того, клітини SK-N-LO були використані для вивчення сигналізації опіоїдних рецепторів. Ці клітини були сконструйовані для експресії μ-опіоїдних рецепторів, що робить їх цінною моделлю для дослідження взаємодії між опіоїдною аналгезією та внутрішньоклітинними сигнальними шляхами. Наприклад, дослідження показали, що морфін стимулює фосфорилювання Akt у клітинах SK-N-LO через шлях PI3Kγ - процес, який може модулюватися цАМФ-сигналом. Це підкреслює універсальність клітин SK-N-LO у вивченні як біології раку, так і нейрофармакології.
Organism	Людина
Tissue	Мозок
Disease	Примітивна нейроектодермальна пухлина
Metastatic site	Кістковий мозок
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Характеристики

Age	10 років
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні

Клітини SK-N-LO | 300400

Growth properties	Адгезив у колбах з колагеновим покриттям

Нормативні дані

Citation	SK-N-LO (номер за каталогом Cytion 300400)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4569

Біомолекулярні дані

Karyotype	Продукт частоти фенотипів: 0.00005

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	Рекомендується дотримуватися пропорції від 1:6 до 1:12
Seeding density	3 до 4 x 10^{4} клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

Клітини SK-N-LO | 300400

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.
Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

Клітини SK-N-LO | 300400

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
Профіль 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

Клітини SK-N-LO | 300400

HLA алелі	**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