Product sheet

Cellules SK-N-LO | 300400

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire SK-N-LO est une lignée cellulaire de neuroblastome humain utilisée dans la recherche pour étudier le neuroblastome ainsi que les mécanismes de l'apoptose et les voies de signalisation du cancer. Elle est également classée parmi les lignées cellulaires de tumeurs neuroectodermiques primitives (PNET) et porte le gène de fusion EWS-FLI1, que l'on retrouve couramment dans les tumeurs de la famille du sarcome d'Ewing (ESFT). Ce gène de fusion résulte d'une translocation chromosomique et joue un rôle clé dans le comportement oncogénique de ces cellules tumorales. Les cellules SK-N-LO sont particulièrement sensibles à certains inhibiteurs ciblant les voies de signalisation oncogéniques. Par exemple, il a été démontré que l'inhibiteur de GLI, le GANT61, induit une apoptose indépendante des caspases dans les cellules SK-N-LO. Le GANT61 perturbe la transcription médiée par GLI1 et GLI2 dans la voie de signalisation Hedgehog (Hh), qui est essentielle à la survie et à la prolifération cellulaires dans cette lignée cellulaire. Lorsqu'elles sont traitées par le GANT61, les cellules SK-N-LO présentent des changements morphologiques associés à l'apoptose, tels que la condensation de la chromatine et la fragmentation nucléaire. De plus, le GANT61 réduit l'expression de protéines telles que GLI2 et la survivine, qui jouent un rôle important dans la progression du cycle cellulaire et la survie cellulaire, tout en augmentant l'expression de p21, un inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines. Par ailleurs, les cellules SK-N-LO ont été utilisées pour étudier la signalisation des récepteurs opioïdes. Ces cellules ont été modifiées génétiquement pour exprimer le récepteur opioïde μ, ce qui en fait un modèle précieux pour étudier l'interaction entre l'analgésie induite par les opioïdes et les voies de signalisation intracellulaires. Par exemple, des études ont montré que la morphine stimule la phosphorylation de l'Akt dans les cellules SK-N-LO par l'intermédiaire de la voie PI3Kγ, un processus qui peut être modulé par la signalisation de l'AMPc. Cela souligne la polyvalence des cellules SK-N-LO dans l'exploration tant de la biologie du cancer que de la neuropharmacologie.
Organism	Humain
Tissue	Cerveau
Disease	Tumeur neuroectodermique primitive
Metastatic site	Moelle osseuse
Synonyms	SK-N-L0, SKN-LO, SKNLO

Caractéristiques

Age	10 ans
Gender	Homme
Ethnicity	caucasien

Cellules SK-N-LO | 300400

Morphology	De type épithélial
Growth properties	Cellules adhérentes dans des flacons recouverts de collagène

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Karyotype	Produit de la fréquence des phénotypes : 0,00005

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	3 à 4 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules SK-N-LO | 300400

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un mélange composé de 50 % de milieu de base + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou du CM-1 (numéro de catalogue Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés afin d'améliorer la récupération et de réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.