

Buňky SK-NEP-1 | 300341

Obecné informace

Description

SK-NEP-1 je lidská buněčná linie původně odvozená z nefroblastomu, známého také jako Wilmsův nádor, což je časté zhoubné onemocnění ledvin u dětí. Tato buněčná linie byla hojně využívána v preklinickém výzkumu ke studiu biologie nefroblastomu a k hodnocení nových terapeutických přístupů k léčbě Wilmsova nádoru. Pozdější molekulární charakterizace však odhalila, že SK-NEP-1 exprimuje fúzní gen EWS-FLI1, který je charakteristický pro Ewingův sarkom, což naznačuje, že tato buněčná linie je spíše zástupcem rodiny Ewingových nádorů než Wilmsova nádoru. Tento objev má důležité důsledky pro interpretaci dřívějších výzkumů, které využívaly SK-NEP-1, protože její biologické charakteristiky se více blíží Ewingovu sarkomu než anaplastickému Wilmsovu nádoru.

Výzkum SK-NEP-1 ukázal, že reaguje na chemoterapeutika, jako je vinkristin, který inhibuje polymerizaci mikrotubulů, což vede k zástavě G2/M fáze a apoptóze. Kombinovaná terapie využívající přírodní sloučeniny, jako je andrografolid, navíc prokázala synergické účinky při zvyšování cytotoxicity vinkristinu na buňky SK-NEP-1, především prostřednictvím signální dráhy PI3K-AKT-p53. Ukázalo se, že tato kombinace vyvolává apoptózu v buňkách SK-NEP-1, a to jak in vitro, tak in vivo, což z ní činí slibný přístup k léčbě nádorů, které mají stejné molekulární charakteristiky jako SK-NEP-1.

SK-NEP-1 je tedy kritickým modelem pro studium molekulárních základů dětských nádorů ledvin a Ewingova sarkomu a pro hodnocení účinnosti kombinací léčiv zaměřených na zlepšení léčebných výsledků u těchto typů nádorů. Jeho využití ve výzkumu přispělo k pochopení apoptózy vyvolané léky a potenciálu cílení na specifické signální dráhy, jako je PI3K-AKT-p53, při léčbě rakoviny.

Organism	Člověk
Tissue	Ledviny
Disease	Wilmsův nádor
Metastatic site	Pleurální výpotek
Synonyms	SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

Charakteristika

Age	25 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné

Buňky SK-NEP-1 | 300341

Growth properties Zavěšení

Regulační údaje

Citation SK-NEP-1 (katalogové číslo Cytion 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomolekulární data

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, produkt fenotypové frekvence: 0.0029

Tumorigenic Ano, na nahých myších.

Mutational profile Mutace P53

Karyotype (P12) hypotriploidní až hypertriploidní (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) s abnormalitami včetně akrocentrických fragmentů, sekundárních zúžení a velkých subtelocentrických markerů

Zpracování

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)

Supplements Doplňte médium o 10% FBS

Subculturing Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Buňky SK-NEP-1 | 300341

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Buňky SK-NEP-1 | 300341

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 10
D13S317: 11
D16S539: 11
D5S818: 13
D7S820: 8,10
TH01: 8,9,3
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
D3S1358: 14,15
D21S11: 29,31
D18S51: 15,17
Penta E: 7,18
Penta D: 11,12
D8S1179: 12
FGA: 24

Buňky SK-NEP-1 | 300341

Alely HLA

A*: '25:01:01, '31:01:02

B*: '51:01:01, '55:01:01

C*: '03:03:01, '15:02:01

DRB1*: '14:54:01, '15:01:01G

DQA1*: '01:02:01, '01:04:01

DQB1*: '05:03:01, '06:02:01

DPB1*: '03:01:01, '04:01:01

E: '01:01:01, '01:03:01