

SK-NEP-1-celler | 300341**Generel information****Description**

SK-NEP-1 er en menneskelig cellelinje, der oprindeligt stammer fra et nefroblastom, også kendt som Wilms' tumor, en almindelig pædiatrisk malignitet i nyrerne. Denne cellelinje er blevet brugt i stor udstrækning i præklinisk forskning til at studere nefroblastomets biologi og til at evaluere nye terapeutiske tilgange til behandling af Wilms' tumor. Senere molekylære karakteriseringer afslørede dog, at SK-NEP-1 udtrykker EWS-FLI1-fusionsgenet, som er karakteristisk for Ewing-sarkom, hvilket indikerer, at denne cellelinje er mere repræsentativ for Ewing-familien af tumorer end for Wilms' tumor. Denne opdagelse har vigtige konsekvenser for fortolkningen af tidligere forskning, der har brugt SK-NEP-1, da dens biologiske egenskaber stemmer bedre overens med Ewing-sarkom end med anaplastisk Wilms' tumor.

Forskning med SK-NEP-1 har vist, at den reagerer på kemoterapimidler som vincristin, der hæmmer mikrotubuli-polymerisering, hvilket fører til G2/M-fasestop og apoptose. Derudover har kombinationsterapier med naturlige forbindelser som andrografolid vist synergistiske effekter ved at øge vincristins cytotoxicitet på SK-NEP-1-celler, primært gennem PI3K-AKT-p53-signalvejen. Denne kombination viste sig at fremkalde apoptose i SK-NEP-1-celler, både in vitro og in vivo, hvilket gør det til en lovende tilgang til behandling af tumorer, der deler de molekylære egenskaber ved SK-NEP-1.

SK-NEP-1 er således en vigtig model til undersøgelse af de molekylære forudsætninger for pædiatriske nyre- og Ewing-sarkomtumor og til evaluering af effektiviteten af lægemiddelkombinationer, der har til formål at forbedre de terapeutiske resultater i disse kræfttyper. Brugen af den i forskning har bidraget til forståelsen af lægemiddelinduceret apoptose og potentialet i at målrette specifikke signalveje som PI3K-AKT-p53 i kræftbehandling.

Organism

Menneske

Tissue

Nyre

Disease

Wilms-tumor

Metastatic site

Pleural effusion

Synonyms

SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

Karakteristika**Age**

25 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

SK-NEP-1-celler | 300341

Growth properties Ophængning

Regulatoriske data

Citation SK-NEP-1 (Cytion katalognummer 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomolekylære data

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

Tumorigenic Yees, i nøgne mus.

Mutational profile P53 mut

Karyotype (P12) hypotriploid til hypertriploid (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) med abnormiteter, herunder akrocentriske fragmenter, sekundære indsnævringer og store subtelocentriske markører

Håndtering

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Subculturing Vedligehold kulturene ved regelmæssigt at tilføje eller udskifte mediet. Start kulturene med en tæthed på 5×10^5 celler/ml og hold cellekoncentrationen inden for området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vækst.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

SK-NEP-1-celler | 300341

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

SK-NEP-1-celler | 300341

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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