

Κύτταρα SK-NEP-1 | 300341

Γενικές πληροφορίες

Description

Το SK-NEP-1 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά που προέρχεται αρχικά από νεφροβλάστωμα, γνωστό και ως όγκος του Wilms, μια κοινή παιδιατρική νεφρική κακοήθεια. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην προκλινική έρευνα για τη μελέτη της βιολογίας του νεφροβλαστώματος και την αξιολόγηση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τη θεραπεία του όγκου Wilms. Ωστόσο, μεταγενέστεροι μοριακοί χαρακτηρισμοί αποκάλυψαν ότι η SK-NEP-1 εκφράζει το γονίδιο σύντηξης EWS-FLI1, το οποίο είναι χαρακτηριστικό του σαρκώματος Ewing, υποδεικνύοντας ότι αυτή η κυτταρική σειρά είναι περισσότερο αντιπροσωπευτική της οικογένειας όγκων Ewing παρά του όγκου του Wilms. Η ανακάλυψη αυτή έχει σημαντικές επιπτώσεις στην ερμηνεία προηγούμενων ερευνών που χρησιμοποίησαν την SK-NEP-1, καθώς τα βιολογικά χαρακτηριστικά της ευθυγραμμίζονται περισσότερο με το σάρκωμα Ewing παρά με τον αναπλαστικό όγκο Wilms.

Η έρευνα που αφορούσε το SK-NEP-1 έχει δείξει ότι ανταποκρίνεται σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες όπως η βινκριστίνη, η οποία αναστέλλει τον πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων, οδηγώντας σε ανακοπή της φάσης G2/M και απόπτωση. Επιπλέον, συνδυαστικές θεραπείες με τη χρήση φυσικών ενώσεων όπως η ανδρογροφολίδη έχουν επιδείξει συνεργιστικά αποτελέσματα στην αύξηση της κυτταροτοξικότητας της βινκριστίνης στα κύτταρα SK-NEP-1, κυρίως μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K-AKT-p53. Ο συνδυασμός αυτός αποδείχθηκε ότι επάγει την απόπτωση στα κύτταρα SK-NEP-1, τόσο in vitro όσο και in vivo, καθιστώντας τον μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη θεραπεία όγκων που μοιράζονται τα μοριακά χαρακτηριστικά του SK-NEP-1.

Το SK-NEP-1 αποτελεί επομένως ένα κρίσιμο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών υποβάθρων των παιδιατρικών νεφρικών όγκων και του σαρκώματος Ewing και για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των συνδυασμών φαρμάκων που αποσκοπούν στη βελτίωση των θεραπευτικών αποτελεσμάτων σε αυτούς τους τύπους καρκίνου. Η χρήση του στην έρευνα έχει συμβάλει στην κατανόηση της απόπτωσης που προκαλείται από τα φάρμακα και των δυνατοτήτων στόχευσης συγκεκριμένων σηματοδοτικών μονοπατιών όπως το PI3K-AKT-p53 στη θεραπεία του καρκίνου.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Νεφρός

Disease Όγκος Wilms

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

Synonyms SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

Χαρακτηριστικά

Age 25 χρόνια

Gender Γυναίκα

Κύτταρα SK-NEP-1 | 300341

Ethnicity Καυκάσιος

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation SK-NEP-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Βιομοριακά δεδομένα

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

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια.

Mutational profile P53 mut

Karyotype (P12) υποτρίπλοια έως υπερτρίπλοια (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) με ανωμαλίες που περιλαμβάνουν ακροκεντρικά θραύσματα, δευτερογενείς στενώσεις και μεγάλους υποτελοκεντρικούς δείκτες

Χειρισμός

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Subculturing Διατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα 5×10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 3×10^5 έως 1×10^6 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα SK-NEP-1 | 300341**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα SK-NEP-1 | 300341**Freezing Procedure**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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