

SK-NEP-1 rakud | 300341

Üldine teave

Description

SK-NEP-1 on inimese rakuliin, mis on algselt saadud nefroblastoomist, tuntud ka kui Wilmsi kasvaja, mis on levinud laste pahaloomuline neerukahjustus. Seda rakuliini on laialdaselt kasutatud prekliinilistes uuringutes nefroblastoomi bioloogia uurimiseks ja Wilmsi kasvaja raviks kasutatavate uute ravimeetodite hindamiseks. Hilisemad molekulaarsed iseloomustused näitasid siiski, et SK-NEP-1 ekspresseerib EWS-FLI1 fusioonigeeni, mis on iseloomulik Ewingi sarkoomile, mis näitab, et see rakuliin esindab pigem Ewingi kasvajate perekonda kui Wilmsi kasvaja. See avastus mõjutab oluliselt varasemate SK-NEP-1 kasutanud uuringute tõlgendamist, kuna selle bioloogilised omadused on pigem Ewingi sarkoomi kui anaplastilise Wilmsi kasvaja omadustega kooskõlas.

SK-NEP-1-ga seotud uuringud on näidanud, et see reageerib kemoteraapia ainetele, nagu vinkristiin, mis inhibeerib mikrotoobulite polümerisatsiooni, mis viib G2/M faasi peatumiseni ja apoptoosini. Lisaks on kombinatsiooniteraapia, milles kasutatakse looduslikke ühendeid, nagu andrografoliid, näidanud sünergilist mõju vinkristiini tsütotoksilisuse suurendamisel SK-NEP-1 rakkudele, peamiselt PI3K-AKT-p53 signaalitee kaudu. On näidatud, et see kombinatsioon kutsub SK-NEP-1 rakkudes esile apoptoosi nii in vitro kui ka in vivo, mistõttu on see paljulubav lähenemisviis SK-NEP-1 molekulaarseid omadusi omavate kasvajate raviks.

SK-NEP-1 on seega kriitiline mudel pediatriliste neeru- ja Ewingi sarkoomi kasvajate molekulaarsete aluste uurimiseks ning nende vähitüüpide ravitulemuste parandamiseks mõeldud ravimikombinatsioonide tõhususe hindamiseks. Selle kasutamine teadusuuringutes on aidanud mõista ravimitest põhjustatud apoptoosi ja konkreetsete signaaliradade, nagu PI3K-AKT-p53, sihtmärgi potentsiaali vähendamist.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Wilmsi kasvaja

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP1, SKNEP

Omadused

Age 25 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

SK-NEP-1 rakud | 300341

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation SK-NEP-1 (Cytioni katalooginumber 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomolekulaarsed andmed

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

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel.

Mutational profile P53 mut

Karyotype (P12) hüpotriploidne kuni hüpertriploidne (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G), millel on kõrvalekalded, sealhulgas akrotsentrilised fragmendid, sekundaarsed ahenemised ja suured subtelotsentrilised markerid

Töötlemine

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820200a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Subculturing Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SK-NEP-1 rakud | 300341

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SK-NEP-1 rakud | 300341

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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