

SK-NEP-1-solut | 300341

Yleisiä tietoja

Description

SK-NEP-1 on ihmisen solulinja, joka on alun perin peräisin nefroblastoomasta, joka tunnetaan myös nimellä Wilmsin kasvain, joka on yleinen lasten munuaisten pahanlaatuinen sairaus. Tätä solulinjaa on käytetty laajalti prekliinisessä tutkimuksessa nefroblastooman biologian tutkimiseen ja uusien terapeuttisten lähestymistapojen arviointiin Wilmsin kasvaimen hoidossa. Myöhemmin tehdyt molekyyli tutkimukset kuitenkin osoittivat, että SK-NEP-1 ilmentää EWS-FLI1-fuusiogeneiä, joka on ominaista Ewingin sarkoomalle, mikä viittaa siihen, että tämä solulinja edustaa pikemminkin Ewingin kasvainperhettä kuin Wilmsin kasvainta. Tällä löydöksellä on merkittäviä vaikutuksia SK-NEP-1:tä hyödyntäneiden aiempien tutkimusten tulkintaan, sillä sen biologiset ominaisuudet vastaavat pikemminkin Ewingin sarkoomaa kuin anaplastista Wilmsin kasvainta.

SK-NEP-1:tä koskevat tutkimukset ovat osoittaneet, että se reagoi kemoterapia-aineisiin, kuten vinkristiiniin, joka estää mikrotubulusten polymerisaatiota, mikä johtaa G2/M-vaiheen pysähtymiseen ja apoptoosiin. Lisäksi yhdistelmähoidot, joissa käytetään luonnollisia yhdisteitä, kuten andrografolia, ovat osoittaneet synergistisiä vaikutuksia, jotka lisäävät vinkristiinin sytotoksisuutta SK-NEP-1-soluissa pääasiassa PI3K-AKT-p53-signaalintireitin kautta. Tämän yhdistelmän osoitettiin indusoivan apoptoosia SK-NEP-1-soluissa sekä in vitro että in vivo, mikä tekee siitä lupaavan lähestymistavan sellaisten kasvainten hoitoon, joilla on SK-NEP-1:n molekyylipiirteet.

SK-NEP-1 on näin ollen kriittinen malli lasten munuais- ja Ewingin sarkoomakasvainten molekulaaristen taustatekijöiden tutkimiseen ja sellaisten lääkeyhdistelmien tehokkuuden arviointiin, joilla pyritään parantamaan hoitotuloksia näissä syöpätyypeissä. Sen käyttö tutkimuksessa on auttanut ymmärtämään lääkkeiden aiheuttamaa apoptoosia ja mahdollisuuksia kohdistaa syöpähoitossa erityisiä signalointireittejä, kuten PI3K-AKT-p53.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Metastatic site Pleuraeffuusio

Synonyms SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP1, SKNEP

Ominaisuudet

Age 25 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Epiteelin kaltainen

SK-NEP-1-solut | 300341

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation SK-NEP-1 (Cytionin luettelonumero 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomolekyylitiedot

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

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä.

Mutational profile P53 mut

Karyotype (P12) hypotriploidista hypertriploidiin (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) ja poikkeavuuksia, kuten akrosentriset fragmentit, sekundaariset supistumat ja suuret subtelosentriset merkit

Käsittely

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820200a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Subculturing Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $3 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.

Split ratio Suositeltava suhde on 1:2–1:4

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

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

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SK-NEP-1-solut | 300341**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasisissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**Sterility**

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

CSF1PO: 10
D13S317: 11
D16S539: 11
D5S818: 13
D7S820: 8,1
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

HLA-alleelit

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