

## SK-NEP-1 ląstelės | 300341

## Bendra informacija

## Description

SK-NEP-1 yra žmogaus ląstelių linija, iš pradžių gauta iš nefroblastomos, dar žinomos kaip Vilmsio navikas - dažnas vaikų inkstų piktybinis navikas. Ši ląstelių linija plačiai naudojama ikiklinikiniuose tyrimuose tiriant nefroblastomos biologiją ir vertinant naujus Vilmsio naviko gydymo metodus. Tačiau vėlesni molekuliniai tyrimai atskleidė, kad SK-NEP-1 ekspresuoja EWS-FLI1 sintezės geną, kuris būdingas Ewingo sarkomai, o tai rodo, kad ši ląstelių linija labiau atstovauja Ewingo šeimos navikams, o ne Vilmsio navikui. Šis atradimas turi svarbią reikšmę interpretuojant ankstesnius tyrimus, kuriuose buvo naudojama SK-NEP-1, nes jos biologinės savybės labiau atitinka Ewingo sarkomą, o ne anaplastinį Vilmsio naviką.

Su SK-NEP-1 atlikti tyrimai parodė, kad jis reaguoja į chemoterapijos preparatus, tokius kaip vinkristinas, kuris slopina mikrotubulių polimerizaciją, todėl sustoja G2/M fazėje ir sukelia apoptozę. Be to, taikant kombinuotą gydymą natūraliais junginiais, tokiais kaip andrografolidas, nustatytas sinergetinis poveikis didinant vinkristino citotoksiškumą SK-NEP-1 ląstelėms, visų pirma per PI3K-AKT-p53 signalinį kelią. Įrodyta, kad šis derinys sukelia SK-NEP-1 ląstelių apoptozę tiek in vitro, tiek in vivo, todėl tai yra perspektyvus metodas gydyti navikus, kurie pasižymi panašiomis SK-NEP-1 molekulinėmis savybėmis.

Taigi SK-NEP-1 yra labai svarbus modelis tiriant vaikų inkstų ir Ewingo sarkomos navikų molekulinis pagrindus ir vertinant vaistų derinių, kuriais siekiama pagerinti šių tipų vėžio gydymo rezultatus, veiksmingumą. Jo naudojimas moksliniams tyrimams padėjo suprasti vaistų sukeltą apoptozę ir konkrečių signalinių kelių, tokių kaip PI3K-AKT-p53, tikslinio poveikio vėžio gydymui galimybes.

<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Inkstai
<b>Disease</b>	Vilmsio navikas
<b>Metastatic site</b>	Pleuros išskyros
<b>Synonyms</b>	SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

## Charakteristikos

<b>Age</b>	25 metai
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Ethnicity</b>	Kaukaziečių
<b>Morphology</b>	Į epitelį panašus

**SK-NEP-1 ląstelės | 300341**

**Growth properties** Pakaba

**Reguliavimo duomenys**

**Citation** SK-NEP-1 (Cytion katalogo numeris 300341)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0631

**Biomolekuliniai duomenys**

**Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotipo dažnio produktas: 0.0029

**Tumorigenic** Taip, nuogoms pelėms.

**Mutational profile** P53 mutacija

**Karyotype** (P12) nuo hipotriploidinių iki hipertriploidinių (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) su anomalijomis, įskaitant akrocentrinus fragmentus, antrinius susiaurėjimus ir dideles subtelocentrines žymes

**Tvarkymas**

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820200a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Subculturing** Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su  $5 \times 10^5$  ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo  $3 \times 10^5$  iki  $1 \times 10^6$  ląstelių/ml.

**Split ratio** Rekomenduojamas santykis nuo 1:2 iki 1:4

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage  
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA****Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

**STR profilis**

**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 aleliai**

**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