

SK-NEP-1 šūnas | 300341

Vispārīga informācija

Description

SK-NEP-1 ir cilvēka šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no nefroblastomas, kas pazīstama arī kā Vilmsa audzējs - izplatīts nieru ļaundabīgs audzējs pediatrijā. Šī šūnu līnija ir plaši izmantota pirmsklīniskajos pētījumos, lai pētītu nefroblastomas bioloģiju un novērtētu jaunas terapeitiskās pieejas Vilmsa audzēja ārstēšanai. Tomēr vēlākā molekulārā raksturojumā atklājās, ka SK-NEP-1 ekspresē EWS-FLI1 saplūšanas gēnu, kas raksturīgs Evinga sarkomai, norādot, ka šī šūnu līnija vairāk pārstāv Evinga audzēju grupu, nevis Vilmsa audzēju. Šim atklājumam ir svarīga nozīme, interpretējot iepriekšējos pētījumus, kuros tika izmantota SK-NEP-1, jo tās bioloģiskās īpašības vairāk atbilst Evinga sarkomai, nevis anaplastiskajam Vilmsa audzējam.

Pētījumi ar SK-NEP-1 ir parādījuši, ka tas ir jutīgs pret ķīmijterapijas līdzekļiem, piemēram, vinkristīnu, kas kavē mikrotubulu polimerizāciju, izraisot G2/M fāzes apstāšanos un apoptozi. Turklāt kombinētā terapija, izmantojot dabiskus savienojumus, piemēram, andrografolīdu, ir pierādījusi sinerģisku iedarbību, palielinot vinkristīna citotoksicitāti SK-NEP-1 šūnām, galvenokārt izmantojot PI3K-AKT-p53 signalizācijas ceļu. Tika pierādīts, ka šī kombinācija izraisa apoptozi SK-NEP-1 šūnās gan in vitro, gan in vivo, padarot to par daudzsoļu pieeju SK-NEP-1 raksturīgo audzēju ārstēšanai.

Tādējādi SK-NEP-1 ir izšķirošs modelis, lai pētītu bērnu nieru un Jvinga sarkomas audzēju molekulāro pamatu un novērtētu zāļu kombināciju efektivitāti, kuru mērķis ir uzlabot terapeitiskos rezultātus šo vēža veidu gadījumā. Tā izmantošana pētniecībā ir palīdzējusi izprast zāļu izraisītu apoptozi un iespējas vēža terapijā mērķtiecīgi iedarboties uz specifiskiem signālu ceļiem, piemēram, PI3K-AKT-p53.

Organism

Cilvēks

Tissue

Nieres

Disease

Vilmsa audzējs

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Synonyms

SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

Raksturojums

Age

25 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

SK-NEP-1 šūnas | 300341

Growth properties Apturēšana

Normatīvie dati

Citation SK-NEP-1 (Cytion kataloga numurs 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomolekulārie dati

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

Tumorigenic Jā, kailām pelēm.

Mutational profile P53 mutācija

Karyotype (P12) hipotriploīds līdz hipertriploīds (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) ar anomālijām, tostarp akrocetriskiem fragmentiem, sekundāriem sašaurinājumiem un lieliem subtelocentriskiem marķieriem

Darbs ar

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Subculturing Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 1×10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.

Split ratio Ieteicams izmantot proporciju no 1:2 līdz 1:4

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

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

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

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

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

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 alēles

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