

SK-NEP-1-cellen | 300341

Algemene informatie

Description

SK-NEP-1 is een menselijke cellijn die oorspronkelijk is afgeleid van een nefroblastoom, ook bekend als Wilms' tumor, een veel voorkomende pediatrie kwaadaardige nierziekte. Deze cellijn is uitgebreid gebruikt in preklinisch onderzoek om de biologie van nefroblastoom te bestuderen en om nieuwe therapeutische benaderingen voor de behandeling van Wilms' tumor te evalueren. Latere moleculaire karakterisering onthulden echter dat SK-NEP-1 het EWS-FLI1 fusiegen tot expressie brengt, dat kenmerkend is voor Ewing-saroom, wat aangeeft dat deze cellijn representatiever is voor de Ewing-familie van tumoren dan voor Wilms' tumor. Deze ontdekking heeft belangrijke implicaties voor de interpretatie van eerder onderzoek waarbij SK-NEP-1 werd gebruikt, aangezien de biologische kenmerken meer overeenkomen met Ewing-saroom dan met anaplastische Wilms' tumor.

Onderzoek met SK-NEP-1 heeft aangetoond dat het gevoelig is voor chemotherapiemiddelen zoals vincristine, dat polymerisatie van microtubuli remt, wat leidt tot stilstand in de G2/M-fase en apoptose. Daarnaast hebben combinatietherapieën met natuurlijke verbindingen zoals andrographolide synergetische effecten aangetoond bij het verhogen van de cytotoxiciteit van vincristine op SK-NEP-1 cellen, voornamelijk via de PI3K-AKT-p53 signaalroute. Aangetoond werd dat deze combinatie apoptose in SK-NEP-1 cellen induceert, zowel in vitro als in vivo, waardoor het een veelbelovende aanpak is voor de behandeling van tumoren die de moleculaire kenmerken van SK-NEP-1 delen.

SK-NEP-1 is dus een cruciaal model voor het bestuderen van de moleculaire onderbouw van pediatrie nier- en Ewing-sarcomatumoren en voor het evalueren van de effectiviteit van medicijncombinaties gericht op het verbeteren van de therapeutische uitkomsten bij deze kankertypes. Het gebruik ervan in onderzoek heeft bijgedragen aan het begrijpen van geneesmiddel-geïnduceerde apoptose en het potentieel van het richten op specifieke signaalwegen zoals PI3K-AKT-p53 in kankertherapie.

Organism	Mens
Tissue	Nieren
Disease	Wilms tumor
Metastatic site	Pleurale effusie
Synonyms	SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

Kenmerken

Age	25 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Kaukasisch

SK-NEP-1-cellen | 300341

Morphology Epitheelachtig

Growth properties Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation SK-NEP-1 (Cytion catalogusnummer 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomoleculaire gegevens

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotype Frequentie Product: 0.0029

Tumorigenic Ja, in naakte muizen.

Mutational profile P53 mutatie

Karyotype (P12) hypotriploïd tot hypertriploïd (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) met afwijkingen waaronder acrocentrische fragmenten, secundaire vernauwingen en grote sub-telocentrische markers

Omgaan met

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Subculturing Onderhoud de culturen door het medium periodiek toe te voegen of te vervangen. Start de culturen met een dichtheid van 5×10^5 cellen/ml en houd de celconcentratie binnen het bereik van 3×10^5 tot 1×10^6 cellen/ml voor een optimale groei.

Split ratio Een verhouding van 1:2 tot 1:4 wordt aanbevolen

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

SK-NEP-1-cellen | 300341

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

SK-NEP-1-cellen | 300341

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

SK-NEP-1-cellen | 300341

HLA-allelen

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