

SK-NEP-1-celler | 300341

Generell informasjon

Description

SK-NEP-1 er en human cellelinje som opprinnelig stammer fra et nefroblastom, også kjent som Wilms' tumor, en vanlig malignitet i nyrene hos barn. Denne cellelinjen har blitt brukt i utstrakt grad i preklinisk forskning for å studere nefroblastomets biologi og for å evaluere nye behandlingsmetoder for Wilms' svulst. Senere molekylære karakteriseringer har imidlertid avdekket at SK-NEP-1 uttrykker fusjonsgenet EWS-FLI1, som er karakteristisk for Ewing-sarkom, noe som indikerer at denne cellelinjen er mer representativ for Ewing-familien av svulster enn for Wilms' svulst. Denne oppdagelsen har viktige implikasjoner for tolkningen av tidligere forskning som har benyttet SK-NEP-1, ettersom cellelinjens biologiske egenskaper stemmer bedre overens med Ewing-sarkom enn med anaplastisk Wilms' tumor.

Forskning på SK-NEP-1 har vist at den reagerer på cellegift som vincristin, som hemmer mikrotubulipolymerisering, noe som fører til G2/M-fasestans og apoptose. I tillegg har kombinasjonsbehandlinger med naturlige forbindelser som andrografolid vist seg å ha en synergistisk effekt når det gjelder å øke cytotoxiciteten av vinkristin på SK-NEP-1-celler, primært gjennom PI3K-AKT-p53-signalveien. Denne kombinasjonen har vist seg å indukere apoptose i SK-NEP-1-celler, både in vitro og in vivo, noe som gjør den til en lovende tilnærming til behandling av svulster som deler de molekylære egenskapene til SK-NEP-1.

SK-NEP-1 er dermed en viktig modell for å studere de molekylære forutsetningene for nyre- og Ewing-sarkomsvulster hos barn, og for å evaluere effekten av kombinasjoner av legemidler som skal forbedre behandlingsresultatene for disse krefttypene. Bruken av den i forskning har bidratt til å forstå medikamentindusert apoptose og potensialet i å målrette kreftbehandling mot spesifikke signalveier som PI3K-AKT-p53.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Metastatic site Pleuraeffusjon

Synonyms SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

Kjennetegn

Age 25 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

SK-NEP-1-celler | 300341

Growth properties Oppheng

Regulatoriske data

Citation SK-NEP-1 (Cytion katalognummer 300341)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0631

Biomolekylære data

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

Tumorigenic Ja, i nakne mus.

Mutational profile P53 mut

Karyotype (P12) hypotriploid til hypertriploid (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) med abnormaliteter som akrocentriske fragmenter, sekundære innsnevninger og store subtelosentriske markører

Håndtering

Culture Medium McCoys 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820200a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Subculturing Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.

Split ratio Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

SK-NEP-1-celler | 300341

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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