

**Komórki SK-NEP-1 | 300341****Informacje ogólne****Description**

SK-NEP-1 to ludzka linia komórkowa pierwotnie pochodząca z nefroblastoma, znanego również jako guz Wilmsa, powszechnego nowotworu złośliwego nerek u dzieci. Ta linia komórkowa była szeroko wykorzystywana w badaniach przedklinicznych do badania biologii nefroblastoma i oceny nowych podejść terapeutycznych do leczenia guza Wilmsa. Późniejsza charakterystyka molekularna ujawniła jednak, że SK-NEP-1 wykazuje ekspresję genu fuzyjnego EWS-FLI1, który jest charakterystyczny dla mięsaka Ewinga, co wskazuje, że ta linia komórkowa jest bardziej reprezentatywna dla rodziny nowotworów Ewinga niż guza Wilmsa. Odkrycie to ma ważne implikacje dla interpretacji wcześniejszych badań wykorzystujących SK-NEP-1, ponieważ jego cechy biologiczne są bardziej zbliżone do mięsaka Ewinga niż anaplastycznego guza Wilmsa.

Badania z udziałem SK-NEP-1 wykazały, że jest on wrażliwy na środki chemioterapeutyczne, takie jak winkrystyna, która hamuje polimeryzację mikrotubul, prowadząc do zatrzymania fazy G2/M i apoptozy. Dodatkowo, terapie skojarzone z wykorzystaniem naturalnych związków, takich jak andrografolid, wykazały synergistyczne działanie w zwiększaniu cytotoksyczności winkrystyny na komórki SK-NEP-1, głównie poprzez szlak sygnałowy PI3K-AKT-p53. Wykazano, że ta kombinacja indukuje apoptozę w komórkach SK-NEP-1, zarówno in vitro, jak i in vivo, co czyni ją obiecującym podejściem do leczenia nowotworów, które mają cechy molekularne SK-NEP-1.

SK-NEP-1 jest zatem krytycznym modelem do badania molekularnych podstaw dziecięcych guzów nerek i mięsaka Ewinga oraz do oceny skuteczności kombinacji leków mających na celu poprawę wyników terapeutycznych w tych typach nowotworów. Jego zastosowanie w badaniach przyczyniło się do zrozumienia apoptozy indukowanej lekami i potencjału ukierunkowania określonych szlaków sygnałowych, takich jak PI3K-AKT-p53 w terapii raka.

**Organism**

Człowiek

**Tissue**

Nerka

**Disease**

Guz Wilmsa

**Metastatic site**

Wysięk opłucnowy

**Synonyms**

SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

**Charakterystyka****Age**

25 lat

**Gender**

Kobieta

**Ethnicity**

Kaukaski

**Morphology**

Podobny do nabłonka

**Komórki SK-NEP-1 | 300341**

**Growth properties**      Zawieszenie

**Dane regulacyjne**

**Citation**      SK-NEP-1 (numer katalogowy Cytion 300341)

**Biosafety level**      1

**NCBI\_TaxID**      9606

**CellosaurusAccession**      CVCL\_0631

**Dane biomolekularne**

**Isoenzymes**      PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, produkt częstotliwości fenotypu: 0.0029

**Tumorigenic**      Tak, u nagich myszy.

**Mutational profile**      Mutacja P53

**Karyotype**      (P12) hipotriploidalne do hipertriploidalnych (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) z nieprawidłowościami obejmującymi fragmenty akrocentryczne, wtórne zwężenia i duże markery subtelecentryczne

**Obsługa**

**Culture Medium**      McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820200a)

**Supplements**      Uzupelnic podloze 10% FBS

**Subculturing**      Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości  $5 \times 10^5$  komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od  $3 \times 10^5$  do  $1 \times 10^6$  komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.

**Split ratio**      Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

**Fluid renewal**      2 do 3 razy w tygodniu

## Komórki SK-NEP-1 | 300341

### Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

## Komórki SK-NEP-1 | 300341

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

**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

**Komórki SK-NEP-1 | 300341**

**Allele HLA**

**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