

Células SK-NEP-1 | 300341**Informações gerais****Description**

A SK-NEP-1 é uma linha celular humana originalmente derivada de um nefroblastoma, também conhecido como tumor de Wilms, uma neoplasia renal pediátrica comum. Esta linha celular tem sido amplamente utilizada na investigação pré-clínica para estudar a biologia do nefroblastoma e para avaliar novas abordagens terapêuticas para o tratamento do tumor de Wilms. No entanto, caracterizações moleculares posteriores revelaram que a SK-NEP-1 expressa o gene de fusão EWS-FLI1, que é característico do sarcoma de Ewing, indicando que esta linha celular é mais representativa da família de tumores de Ewing do que do tumor de Wilms. Esta descoberta tem implicações importantes na interpretação de investigações anteriores que utilizaram a SK-NEP-1, uma vez que as suas características biológicas estão mais próximas do sarcoma de Ewing do que do tumor anaplásico de Wilms.

A investigação que envolveu o SK-NEP-1 mostrou que este responde a agentes quimioterapêuticos como a vincristina, que inibe a polimerização dos microtúbulos, levando à paragem da fase G2/M e à apoptose. Além disso, as terapias combinadas que utilizam compostos naturais como a andrographolide demonstraram efeitos sinérgicos no aumento da citotoxicidade da vincristina nas células SK-NEP-1, principalmente através da via de sinalização PI3K-AKT-p53. Esta combinação demonstrou induzir apoptose nas células SK-NEP-1, tanto in vitro como in vivo, tornando-a uma abordagem promissora para o tratamento de tumores que partilham as características moleculares da SK-NEP-1.

O SK-NEP-1 é, assim, um modelo fundamental para o estudo das bases moleculares dos tumores pediátricos renais e do sarcoma de Ewing e para a avaliação da eficácia de combinações de medicamentos destinadas a melhorar os resultados terapêuticos nestes tipos de cancro. A sua utilização na investigação contribuiu para a compreensão da apoptose induzida por fármacos e do potencial de atingir vias de sinalização específicas como a PI3K-AKT-p53 na terapia do cancro.

Organism Humano**Tissue** Rim**Disease** Tumor de Wilms**Metastatic site** Derrame pleural**Synonyms** SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP**Caraterísticas****Age** 25 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano

Células SK-NEP-1 | 300341**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Suspensão**Dados regulamentares****Citation** SK-NEP-1 (número de catálogo Cytion 300341)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0631**Dados biomoleculares****Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, Produto de frequência fenotípica: 0.0029**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus.**Mutational profile** P53 mut**Karyotype** (P12) hipotriplóide a hipertriplóide (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) com anomalias incluindo fragmentos acrocêntricos, constrições secundárias e grandes marcadores sub telocêntricos**Manuseamento****Culture Medium** McCoy's 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820200a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Subculturing** Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 5×10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 3×10^5 a 1×10^6 células/ml para um crescimento ideal.**Split ratio** Recomenda-se uma proporção de 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Células SK-NEP-1 | 300341

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células SK-NEP-1 | 300341

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil STR

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

Células SK-NEP-1 | 300341

Alelos 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