

**Bunky SK-NEP-1 | 300341****Všeobecné informácie****Description**

SK-NEP-1 je ľudská bunková línia pôvodne odvodená z nefroblastómu, známeho aj ako Wilmsov nádor, ktorý je bežným detským malígnym ochorením obličiek. Táto bunková línia sa vo veľkej miere používa v predklinickom výskume na štúdium biológie nefroblastómu a na hodnotenie nových terapeutických prístupov na liečbu Wilmsovho nádoru. Neskoršie molekulárne charakteristiky však odhalili, že SK-NEP-1 exprimuje fúzny gén EWS-FLI1, ktorý je charakteristický pre Ewingov sarkóm, čo naznačuje, že táto bunková línia je skôr zástupcom Ewingovej rodiny nádorov než Wilmsovho nádoru. Tento objav má dôležitý význam pre interpretáciu doterajšieho výskumu, v ktorom sa využíval SK-NEP-1, keďže jeho biologické vlastnosti sa viac približujú Ewingovmu sarkómu než anaplastickému Wilmsovmu nádoru.

Výskum SK-NEP-1 ukázal, že reaguje na chemoterapeutiká, ako je vinkristín, ktorý inhibuje polymerizáciu mikrotubulov, čo vedie k zastaveniu G2/M fázy a apoptóze. Okrem toho kombinované terapie využívajúce prírodné zlúčeniny, ako je andrografolyd, preukázali synergické účinky pri zvyšovaní cytotoxicity vinkristínu na bunky SK-NEP-1, predovšetkým prostredníctvom signálnej dráhy PI3K-AKT-p53. Ukázalo sa, že táto kombinácia indukuje apoptózu v bunkách SK-NEP-1 in vitro aj in vivo, čo z nej robí sľubný prístup na liečbu nádorov, ktoré majú rovnaké molekulárne charakteristiky ako SK-NEP-1.

SK-NEP-1 je teda rozhodujúcim modelom na štúdium molekulárnych základov nádorov detských obličiek a Ewingovho sarkómu a na hodnotenie účinnosti kombinácií liekov zameraných na zlepšenie terapeutických výsledkov u týchto typov rakoviny. Jeho použitie vo výskume prispelo k pochopeniu apoptózy vyvolanej liekmi a potenciálu zamerania sa na špecifické signálne dráhy, ako je PI3K-AKT-p53, pri liečbe rakoviny.

<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Obličky
<b>Disease</b>	Wilmsov nádor
<b>Metastatic site</b>	Pleurálny výpotok
<b>Synonyms</b>	SKNEP-1, SKNEP1, SKNEP

**Charakteristika**

<b>Age</b>	25 rokov
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Kaukazský
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné

**Bunky SK-NEP-1 | 300341**

**Growth properties** Pozastavenie

**Regulačné údaje**

**Citation** SK-NEP-1 (katalógové číslo Cytion 300341)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0631

**Biomolekulárne údaje**

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

**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach.

**Mutational profile** Mutácia P53

**Karyotype** (P12) hypotriploidné až hypertriploidné (+A1, +A2, +C, +D, +E, +F, +G) s abnormalitami vrátane akrocentrických fragmentov, sekundárnych zúžení a veľkých subtelocentrických markerov

**Spracovanie**

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo článku Cytion 820200a)

**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS

**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou  $5 \times 10^5$  buniek/ml a pre optimálny rast udržiavajte koncentráciu buniek v rozmedzí  $3 \times 10^5$  až  $1 \times 10^6$  buniek/ml.

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Bunky SK-NEP-1 | 300341****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky SK-NEP-1 | 300341

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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