

Клетки SK-MES-1 | 300339

Обща информация

Description

SK-MES-1 е клетъчна линия на човешки белодробен плоскоклетъчен карцином (LSQCC), широко използвана в изследванията на белодробния рак, особено в проучванията, насочени към втория най-често срещан подтип на недребноклетъчния белодробен рак (NSCLC). Клетките SK-MES-1 се характеризират с висок процент мутации в туморния супресорен ген p53, който е свързан с тяхната резистентност към апоптоза и различни химиотерапии. Тази клетъчна линия служи като важен модел за оценка на нови терапевтични стратегии срещу плоскоклетъчен карцином на белия дроб, особено за лекарства, които са насочени към клетъчния цикъл и апоптотичните пътища.

Проучванията, включващи SK-MES-1, показват, че клетъчната линия реагира на химиотерапевтични агенти на основата на платина, като лобоплатин, които предизвикват апоптоза както по вътрешен, така и по външен път. Установено е, че лобоплатинът, съединение от трето поколение на платината, инхибира пролиферацията на SK-MES-1, като предизвиква спиране на клетъчния цикъл в S-фаза и стимулира апоптозата чрез повишаване на регулацията на проапоптотичните протеини като Bax и понижаване на регулацията на антиапоптотичните протеини като Bcl-2. Освен това клетките SK-MES-1, третирани с лобоплатин, показват повишено активиране на каспаза-3, -8 и -9, което допълнително потвърждава участието на митохондриално-медираната апоптоза.

SK-MES-1 е използван и за изследване на ефектите на други съединения, като например костунолид - фитохимикал, който предизвиква спиране на клетъчния цикъл във фаза G1/S и апоптоза по митохондриално зависим път. Третирането с костунолид повишава експресията на p53 и Bax, като същевременно намалява нивата на Bcl-2 и нарушава митохондриалния мембранен потенциал, което допълнително потвърждава полезността на SK-MES-1 при изучаването на свързаните с апоптозата пътища при белодробния плоскоклетъчен карцином.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Плоскоклетъчен карцином

Metastatic site Плеврален излив

Synonyms SK MES 1, SKMES-1, SK-Mes-1, SK-MES1, SKMES1, SK-MES, SKMES

Характеристики

Age 65 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Клетки SK-MES-1 | 300339

Morphology Подобни на епител

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation SK-MES-1 (каталожен номер 300339 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0630

Биомолекуларни данни

Protein expression P53 отрицателен

Isoenzymes Me-2, 1-2, PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B, Фенотип Честота на продукта: 0.0132

Karyotype Хромозомният брой на стволовите хромозоми е хипотриплоиден, като компонентът 2S се среща на 3,2%. Седемнадесет до 20 маркерни хромозоми са характерни за повечето S метафази. Нормалните хромозоми x, 13 и 19 отсъстват, а хромозоми 2, 3, 14, 17 и 20 обикновено са монозомни. Хромозомата Y не е открита чрез оцветяване с QM.

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Клетки SK-MES-1 | 300339

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio Препоръчва се съотношение от 1:3 до 1:6

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки SK-MES-1 | 300339

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки SK-MES-1 | 300339**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA**Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

**Профил на
STR**

Amelogenin: x, y
CSF1PO: 12
D13S317: 11
D16S539: 13
D5S818: 11
D7S820: 8
TH01: 6,9,3
TPOX: 8
vWA: 14
D3S1358: 16
D21S11: 29,3
D18S51: 17
Penta E: 5,11
Penta D: 12,13
D8S1179: 13,14
FGA: 20,24

HLA аели

A*: '03:01:01
B*: '07:02:01
C*: '07:02:01
DRB1*: '16:01:01
DQA1*: '01:02:02
DQB1*: '05:02:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:03:02