

Κύτταρα SK-MES-1 | 300339

Γενικές πληροφορίες

Description

Η SK-MES-1 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά πλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα (LSQCC) που χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο του πνεύμονα, ιδίως σε μελέτες που εστιάζουν στον δεύτερο πιο κοινό υποτύπο του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC). Τα κύτταρα SK-MES-1 χαρακτηρίζονται από υψηλό ποσοστό μεταλλάξεων στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53, το οποίο εμπλέκεται στην αντίστασή τους στην απόπτωση και στις διάφορες χημειοθεραπείες. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμεύει ως σημαντικό μοντέλο για την αξιολόγηση νέων θεραπευτικών στρατηγικών κατά του πλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα, ιδίως για φάρμακα που στοχεύουν τα μονοπάτια του κυτταρικού κύκλου και της απόπτωσης.

Μελέτες που αφορούν την SK-MES-1 έχουν δείξει ότι η κυτταρική σειρά ανταποκρίνεται σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες με βάση την πλατίνα, όπως η λομπαπλατίνη, οι οποίοι επάγουν απόπτωση μέσω τόσο ενδογενών όσο και εξωγενών μονοπατιών. Η λομπαπλατίνη, μια ένωση πλατίνας τρίτης γενιάς, έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό της SK-MES-1 προκαλώντας τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου της φάσης S και προάγοντας την απόπτωση μέσω της ρύθμισης προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών όπως η Bax και της μείωσης των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών όπως η Bcl-2. Επιπλέον, τα κύτταρα SK-MES-1 που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με λομπαπλατίνη παρουσίασαν αύξηση της ενεργοποίησης των κασπάσης-3, -8 και -9, υποστηρίζοντας περαιτέρω την εμπλοκή της απόπτωσης που διαμεσολαβείται από τα μιτοχόνδρια.

Το SK-MES-1 έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των επιδράσεων άλλων ενώσεων, όπως η κοστουνολίδη, ένα φυτοχημικό που επάγει τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1/S και την απόπτωση μέσω μιας οδού που εξαρτάται από τα μιτοχόνδρια. Η θεραπεία με κοστουνολίδη αυξάνει την έκφραση των p53 και Bax, ενώ μειώνει τα επίπεδα του Bcl-2 και διαταράσσει το μιτοχονδριακό μεμβρανικό δυναμικό, επιβεβαιώνοντας περαιτέρω τη χρησιμότητα του SK-MES-1 στη μελέτη μονοπατιών που σχετίζονται με την απόπτωση στο πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

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

Χαρακτηριστικά

Age 65 χρόνια

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Κύτταρα SK-MES-1 | 300339

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation SK-MES-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300339)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0630

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression P53 αρνητικό

Isoenzymes Me-2, 1-2, PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπου: 0.0132

Karyotype Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων του στελέχους είναι υποτριπλοειδής, με τη συνιστώσα 2S να εμφανίζεται σε ποσοστό 3,2%. Δεκαεπτά έως 20 χρωμοσώματα-δείκτες ήταν κοινά στις περισσότερες S μεταφάσεις. Τα φυσιολογικά χρωμοσώματα x, 13 και 19 απουσίαζαν και τα χρωμοσώματα 2, 3, 14, 17 και 20 ήταν γενικά μονοσωμικά. Το χρωμόσωμα Y δεν ανιχνεύθηκε με τη χρήση χρώσης QM.

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Κύτταρα SK-MES-1 | 300339

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio Συνιστάται αναλογία 1:3 έως 1:6

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα SK-MES-1 | 300339

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα SK-MES-1 | 300339

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Προφίλ 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 αλληλόμορφα

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