

Células SK-MES-1 | 300339

Informações gerais

Description

A SK-MES-1 é uma linha celular de carcinoma de células escamosas do pulmão humano (LSQCC) amplamente utilizada na investigação do cancro do pulmão, particularmente em estudos centrados no segundo subtipo mais comum de cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC). As células SK-MES-1 caracterizam-se por uma elevada taxa de mutações no gene supressor de tumores p53, que está implicado na sua resistência à apoptose e a várias quimioterapias. Esta linha celular constitui um modelo importante para a avaliação de novas estratégias terapêuticas contra o carcinoma espinocelular do pulmão, nomeadamente para os fármacos que visam o ciclo celular e as vias apoptóticas.

Estudos realizados com a SK-MES-1 demonstraram que a linha celular responde a agentes quimioterapêuticos à base de platina, como a lobaplatina, que induzem a apoptose através das vias intrínseca e extrínseca. Foi demonstrado que a lobaplatina, um composto de platina de terceira geração, inibe a proliferação da SK-MES-1 induzindo a paragem do ciclo celular na fase S e promovendo a apoptose através da regulação positiva de proteínas pró-apoptóticas como a Bax e da regulação negativa de proteínas anti-apoptóticas como a Bcl-2. Além disso, as células SK-MES-1 tratadas com lobaplatina apresentaram um aumento da ativação da caspase-3, -8 e -9, apoiando ainda mais o envolvimento da apoptose mediada por mitocôndrias.

O SK-MES-1 também foi utilizado para estudar os efeitos de outros compostos, como o costunolide, um fitoquímico que induz a paragem do ciclo celular na fase G1/S e a apoptose através de uma via dependente da mitocôndria. O tratamento com costunolide aumenta a expressão de p53 e Bax, enquanto reduz os níveis de Bcl-2 e perturba o potencial da membrana mitocondrial, confirmando ainda mais a utilidade do SK-MES-1 no estudo das vias relacionadas com a apoptose no carcinoma escamoso do pulmão.

Organism

Humano

Tissue

Pulmão

Disease

Carcinoma de células escamosas

Metastatic site

Derrame pleural

Synonyms

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

Caraterísticas

Age

65 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

De tipo epitelial

Células SK-MES-1 | 300339

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation SK-MES-1 (número de catálogo Cytion 300339)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0630

Dados biomoleculares

Protein expression P53 negativo

Isoenzymes Me-2, 1-2, PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B, Produto de frequência fenotípica: 0.0132

Karyotype O número de cromossomas da linha-tronco é hipotriplóide, com o componente 2S a ocorrer em 3,2%. Dezassete a 20 cromossomas marcadores eram comuns à maioria das metáfases S. Os cromossomas x, 13 e 19 normais estavam ausentes e os cromossomas 2, 3, 14, 17 e 20 eram geralmente monossómicos. O cromossoma Y não foi detectado com a coloração QM.

Manuseamento

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Células SK-MES-1 | 300339

Split ratio Recomenda-se uma proporção de 1:3 a 1:6

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

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.

Células SK-MES-1 | 300339

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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

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.

Células SK-MES-1 | 300339

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

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

Alelos HLA

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