

MKN1-rakud | 305589

Üldine teave

Description

MKN1 on inimese maovähi rakuliin, mis on saadud halvasti diferentseeritud adenokartsinoomiga täiskasvanud patsiendilt. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes, kuna see on oluline maovähi progresseerumise, invasiivsuse ja ravivastuse modelleerimisel. See näitab mesenkhüümilaadset morfoloogiat, mis viitab epiteel-mesenkhüüm-üleminekule (EMT), mis on vähimetastaaside tekkimisel otsustava tähtsusega protsess. MKN1 rakuliin paistab silma selliste võtmevalkude nagu RhoA mõõduka kuni madala ekspressiooniga, mis teeb sellest olulise vahendi rakkude adhesiivsusega ja liikuvusega seotud signaaliteede uurimisel.

Hiljutised uuringud rõhutavad MKN1 tähtsust DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1) – oletatava vähirakkude tüvirakkude markeri – rolli uurimisel maovähis. DCLK1-i üliekspressioon MKN1-rakkudes soodustab EMT-d ja suurendab väikeste ekstratsellulaarsete vesikulite (SEV-de) sekretsiooni, mis on seotud rakkude rändega ja kasvaja mikrokeskkonda ümberkujundamisega. DCLK1-d üleväljendavate MKN1-rakkude SEV-de proteoomiline analüüs on tuvastanud olulisi muutusi rändes ja adhesiivis osalevates valkudes, nagu STRAP ja BCAM. Lisaks näib, et DCLK1 kinaasiaktiivsus reguleerib nende vesikulite sisaldusvalkude valikut, rõhutades selle potentsiaali terapeutilise sihtmärgina.

Lisaks on MKN1-rakkudes RHOA-mutatsiooni (R129W) käsitlevad uuringud näidanud selle rolli rakkude rändamise ja adhesiooni signaalradade muutmises, sõltumata CDH1-mutatsioonidest. Funktsionaalsed analüüsid näitavad, et mutatsioon põhjustab RhoA kõrgemal tasemel aktiivset GTP-seotud olekut, seostades seda suurenenud rakkude liikuvusega. Need leiud muudavad MKN1 tugevaks mudeliks maovähi patogeneesi aluseks olevate geneetiliste ja molekulaarsete mehhanismide uurimiseks ning potentsiaalsete ravimeetodite testimiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Maha

Disease

Adenoskamoosne kartsinoom

Metastatic site

Lümfisõlm

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Omadused

Age

72 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Jaapani

Morphology

Epiteelilaadsed

MKN1-rakud | 305589

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

MKN1 (Cytioni kataloognumber 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile

Mutatsioon: TP53, p.Val143Ala (c.428T>C)

Töötlemine

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MKN1-rakud | 305589

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

MKN1-rakud | 305589

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.