

MKN1-solut | 305589

Yleisiä tietoja

Description

MKN1 on ihmisen mahasyöpäsolulinja, joka on peräisin aikuispotilaalta, jolla oli huonosti erilaistunut adenokarsinooma. Tätä solulinjaa käytetään laajalti syöpätutkimuksessa, koska se soveltuu hyvin mahasyövän etenemisen, invaasion ja hoitovasteen mallintamiseen. Sillä on mesenkyymimäinen morfologia, mikä viittaa epiteeli-mesenkyymisiirtymään (EMT), joka on syövän etäpesäkkeiden muodostumisen kannalta kriittinen prosessi. MKN1-solulinja erottuu siitä, että siinä keskeisten proteiinien, kuten RhoA:n, ilmentyminen on kohtalaista tai vähäistä, mikä tekee siitä välttämättömän työkalun solujen adheesioon ja liikkuvuuteen liittyvien signalointireittien tutkimuksessa.

Tuoreet tutkimukset korostavat MKN1:n merkitystä tutkittaessa DCLK1:n (Doublecortin-like kinase 1) roolia mahasyövässä; DCLK1 on oletettu syöpäsolujen merkkiaine. DCLK1:n yli-ilmentyminen MKN1-soluissa edistää EMT:tä ja tehostaa pienten solunulkoisten vesikkelien (sEV) eritystä, jotka liittyvät solujen migraatioon ja kasvaimen mikroympäristön uudelleenmuodostumiseen. DCLK1:tä yli-ilmentävistä MKN1-soluista peräisin olevien sEV:ien proteomianalyyseissä on havaittu merkittäviä muutoksia siirtymiseen ja adheesioon osallistuvissa proteiineissa, kuten STRAP:ssa ja BCAM:ssa. Lisäksi DCLK1:n kinaasiaktiivisuus näyttää säätelevän näiden vesikkelien sisältämien proteiinien valintaa, mikä korostaa sen potentiaalia terapeuttisena kohteena.

Lisäksi MKN1-soluissa tehdyt RHOA-mutaatiota (R129W) koskevat tutkimukset ovat paljastaneet sen roolin solujen liikkumisen ja adheesioradojen muuttamisessa, riippumatta CDH1-mutaatioista. Toiminnalliset kokeet osoittavat, että mutaatio johtaa RhoA:n korkeampaan aktiiviseen GTP-sitoutuneeseen tilaan, mikä liittyy sen solujen liikkuvuuden lisääntymiseen. Nämä havainnot asettavat MKN1:n vankaksi malliksi mahasyövän patogeneesin taustalla olevien geneettisten ja molekyylimekanismien selvittämiseen sekä potentiaalisten terapeuttisten interventioiden testaamiseen.

Organism

Ihminen

Tissue

Vatsa

Disease

Adenosquamous-karsinooma

Metastatic site

Imusolmuke

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Ominaisuudet

Age

72 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Japanilainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

MKN1-solut | 305589

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

MKN1 (Cytion-tuotenumero 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekyylitiedot

Mutational profile

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

Käsittely

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan TrypLE Express -valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen sekoita solut varovasti 10 ml:lla elatusainetta niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoi sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

MKN1-solut | 305589

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädtyettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädssä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädssä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

MKN1-solut | 305589

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittäyksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.