

MKN1-sejtek | 305589

Általános információk

Description

Az MKN1 egy emberi gyomorrákos sejtvonal, amelyet egy rosszul differenciált adenokarcinómában szenvedő felnőtt betegről nyertek. Ezt a sejtvonalat széles körben használják a rákkutatásban, mivel alkalmas a gyomorrák progressziójának, inváziójának és a terápiákra adott válaszána modellezésére. Mezenchimális jellegű morfológiát mutat, ami az epiteliális-mezenchimális átalakulásra (EMT) utal, amely folyamat kritikus jelentőségű a rák áttétképződésében. Az MKN1 sejtvonalat az jellemzi, hogy olyan kulcsfontosságú fehérjék, mint a RhoA, mérsékelt vagy alacsony szintű expresszióját mutatja, ami elengedhetetlen eszközzé teszi a sejtadhézióhoz és a sejtmozgáshoz kapcsolódó jelátviteli útvonalak tanulmányozásában.

A legújabb kutatások rávilágítanak az MKN1 fontosságára a DCLK1 (Doublecortin-szerű kináz 1) – egy feltételezett rákos őssejt-marker – gyomorrákban betöltött szerepének feltárásában. A DCLK1 túltermelése az MKN1 sejtekben elősegíti az EMT-t és fokozza a kis extracelluláris vezikulák (sEV-ek) szekrécióját, amelyek szerepet játszanak a sejtátdorlásban és a tumor mikrokörnyezetének átalakulásában. A DCLK1-t túltermelő MKN1-sejtekből származó sEV-ek proteomikai elemzése jelentős változásokat tárt fel a migrációban és az adhézióban részt vevő fehérjékben, például a STRAP-ban és a BCAM-ban. Ezen felül úgy tűnik, hogy a DCLK1 kinázaktivitása szabályozza a szállítófehérjék kiválasztását ezekben a vezikulákban, ami aláhúzza annak potenciálját terápiás célpontként.

Ezen felül az MKN1-sejtekben előforduló RHOA-mutációval (R129W) kapcsolatos vizsgálatok rávilágítottak annak szerepére a sejtátdorlási és adhéziós útvonalak megváltoztatásában, függetlenül a CDH1-mutációktól. Funkcionális vizsgálatok azt mutatják, hogy a mutáció a RhoA magasabb aktív, GTP-hez kötött állapotát eredményezi, ami összefüggésbe hozható a fokozott sejtmozgékonyssággal. Ezek az eredmények az MKN1-et megbízható modellként pozicionálják a gyomorrák patogenezisének alapjául szolgáló genetikai és molekuláris mechanizmusok feltárásához, valamint a potenciális terápiás beavatkozások teszteléséhez.

Organism Emberi

Tissue Gyomor

Disease Adenosquamous karcinóma

Metastatic site Nyirokcsomó

Synonyms MKN-1, MKN 1

Jellemzők

Age 72 év

Gender Férfi

Ethnicity Japán

MKN1-sejtek | 305589

Morphology Epithelszerű**Growth properties** Adherent

Szabályozási adatok

Citation MKN1 (Cytion katalógusszám: 305589)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1415

Biomolekuláris adatok

Mutational profile Mutáció: TP53, p.Val143Ala (c.428T>C)

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen TrypLE Express-szel, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. Hagyjuk a sejteket 8-10 percig szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuspendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

MKN1-sejtek | 305589

Thawing and
Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszuspenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping
Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage
Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

MKN1-sejtek | 305589

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.