

MKN1 ląstelės | 305589

Bendra informacija

Description

MKN1 – tai žmogaus skrandžio vėžio ląstelių linija, gauta iš suaugusio paciento, sergančio menkai diferencijuotu adenokarcinoma. Ši ląstelių linija plačiai naudojama vėžio tyrimuose, nes ji yra svarbi modeliuojant skrandžio vėžio progresavimą, invaziją ir reakciją į gydymą. Ji pasižymi mezenchiminio tipo morfologija, rodančia epitelio-mezenchiminį perėjimą (EMT) – procesą, kuris yra kritiškai svarbus vėžio metastazavimui. MKN1 ląstelių linija išsiskiria vidutine ar žema pagrindinių baltymų, pvz., RhoA, ekspresija, todėl ji yra nepakeičiama priemonė tiriant signalinius kelius, susijusius su ląstelių adhezija ir judrumu.

Naujausi tyrimai pabrėžia MKN1 svarbą tiriant DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1) – galimo vėžio kamieninių ląstelių žymens – vaidmenį skrandžio vėžiui. DCLK1 perprodukcija MKN1 ląstelėse skatina EMT ir sustiprina mažų ekstraląstelinės pūslelių (sEV) sekreciją, kurios yra susijusios su ląstelių migracija ir naviko mikroaplinkos pertvarkymu. Atlikus sEV, gautų iš DCLK1 perteklių turinčių MKN1 ląstelių, proteominę analizę, nustatyti reikšmingi pokyčiai baltymuose, dalyvaujančiuose migracijoje ir adhezijoje, pavyzdžiui, STRAP ir BCAM. Be to, atrodo, kad DCLK1 kinazės aktyvumas reguliuoja baltymų, esančių šiuose vezikuluose, atranką, o tai pabrėžia jo potencialą kaip terapinio taikinio.

Be to, tyrimai, susiję su RHOA mutacija (R129W) MKN1 ląstelėse, atskleidė jos vaidmenį keičiant ląstelių migracijos ir adhezijos kelius, nepriklausomai nuo CDH1 mutacijų. Funkciniai tyrimai rodo, kad mutacija lemia didesnę aktyvų RhoA būseną, susijusią su GTP, o tai siejama su padidėjusiu ląstelių judrumu. Šie atradimai leidžia laikyti MKN1 patikimu modeliu, skirtu išnagrinėti genetinius ir molekulinis mechanizmus, lemiančius skrandžio vėžio patogenezę, bei išbandyti potencialias terapines intervencijas.

Organism

Žmogus

Tissue

Skrandis

Disease

Adenokvaminė karcinoma

Metastatic site

Limfmazgis

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Charakteristikos

Age

72 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Japonų

Morphology

Į epitelį panašus

MKN1 ląstelės | 305589

Growth properties

Priglundės

Reguliavimo duomenys

Citation

MKN1 (Cytion katalogo numeris 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile

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

Tvarkymas

Culture Medium

RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements

Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tada visiškai užtepkite "TrypLE Express", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MKN1 ląstelės | 305589**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

MKN1 ląstelės | 305589

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.