

MKN1 šūnas | 305589

Vispārīga informācija

Description

MKN1 ir cilvēka kuņģa vēža šūnu līnija, kas iegūta no pieaugušā pacienta ar vāji diferencētu adenokarcinomu. Šo šūnu līniju plaši izmanto vēža pētījumos, jo tā ir nozīmīga kuņģa vēža progresēšanas, invāzijas un reakcijas uz terapijām modelēšanā. Tai piemīt mezenhīmalai līdzīga morfoloģija, kas liecina par epitēlija-mezenhīmas pāreju (EMT) — procesu, kas ir izšķirošs vēža metastāžu veidošanā. MKN1 šūnu līnija izceļas ar vidēju līdz zemu tādu galveno proteīnu kā RhoA ekspresiju, tādējādi padarot to par būtisku rīku, pētot signālceļus, kas saistīti ar šūnu adheziju un kustīgumu.

Nesenie pētījumi uzsvēr MKN1 nozīmi, izpētot DCLK1 (Doublecortin-līdzīgā kināze 1) — iespējama vēža cilmes šūnu marķiera — lomu kuņģa vēža attīstībā. DCLK1 pārmērīgā ekspresija MKN1 šūnās veicina EMT un pastiprina mazo ekstracelulāro vezikulu (sEV) sekrēciju, kurām ir nozīme šūnu migrācijā un audzēja mikrovides pārveidošanā. Proteomiskā analīze sEV no DCLK1 pārmērīgi ekspresējošām MKN1 šūnām ir identificējusi nozīmīgas izmaiņas proteīnos, kas iesaistīti migrācijā un adhezijā, piemēram, STRAP un BCAM. Turklāt šķiet, ka DCLK1 kināzes aktivitāte regulē kravas proteīnu atlasīšanu šajās vezikulās, kas uzsvēr tās potenciālu kā terapeitisko mērķi.

Turklāt pētījumi, kuros tika izpētīta RHOA mutācija (R129W) MKN1 šūnās, ir atklājuši tās lomu šūnu migrācijas un adhezijas ceļu izmaiņās, neatkarīgi no CDH1 mutācijām. Funkcionālie testi liecina, ka mutācija izraisa RhoA augstāku aktīvo GTP-saistīto stāvokli, saistot to ar pastiprinātu šūnu kustīgumu. Šie atklājumi padara MKN1 par spēcīgu modeli, lai analizētu ģenētiskos un molekulāros mehānismus, kas ir kuņģa vēža patogēnēzes pamatā, un lai pārbaudītu potenciālas terapeitiskas intervences.

Organism

Cilvēks

Tissue

Kuņģis

Disease

Adenokvamoza karcinoma

Metastatic site

Limfmezgls

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Raksturojums

Age

72 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Japāņu

Morphology

Epitēlijveidīgs

MKN1 šūnas | 305589

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	MKN1 (Cytion kataloga numurs 305589)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1415
-----------------------------	-----------

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar TrypLE Express, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	--

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

MKN1 šūnas | 305589

Thawing and
Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Shipping
Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage
Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

MKN1 šūnas | 305589

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.