

Клетки MKN1 | 305589

Обща информация

Description

MKN1 е клетъчна линия от човешки стомашен рак, получена от възрастен пациент с лошо диференциран аденокарцином. Тази клетъчна линия се използва широко в изследванията на рака поради важността ѝ за моделиране на прогресията, инвазията и реакцията на стомашния рак към терапиите. Тя проявява мезенхимноподобна морфология, което е показателно за епително-мезенхимния преход (EMT) – процес, който е от решаващо значение за метастазирането на рака. Клетъчната линия MKN1 се отличава с умерена до ниска експресия на ключови протеини като RhoA, което я превръща в незаменим инструмент при изучаването на сигналните пътища, свързани с клетъчната адхезия и подвижност.

Последните изследвания подчертават важността на MKN1 при проучването на ролята на DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1) – предполагаем маркер на раковите стволови клетки – при рака на стомаха. Свръхекспресията на DCLK1 в клетките MKN1 стимулира EMT и засилва секрецията на малки екстрацелуларни везикули (sEVs), които са свързани с клетъчната миграция и преобразуването на туморната микросреда. Протеомният анализ на sEVs от MKN1-клетки с свръхекспресия на DCLK1 е идентифицирал значителни промени в протеините, участващи в миграцията и адхезията, като STRAP и BCAM. Освен това киназната активност на DCLK1 изглежда регулира подбора на протеините-товар в тези везикули, което подчертава потенциала ѝ като терапевтична мишена.

Освен това проучвания, свързани с мутацията RHOA (R129W) в MKN1-клетки, разкриха нейната роля в промяната на пътищата на клетъчната миграция и адхезия, независимо от мутациите в CDH1. Функционалните тестове показват, че мутацията води до по-високо ниво на активно състояние на RhoA, свързано с GTP, което я свързва с повишена клетъчна подвижност. Тези открития позиционират MKN1 като надежден модел за изследване на генетичните и молекулярните механизми, лежащи в основата на патогенезата на рака на стомаха, и за тестване на потенциални терапевтични интервенции.

Organism

Човек

Tissue

Стомахът

Disease

Аденосквамозен карцином

Metastatic site

Лимфен възел

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Характеристики

Age

72 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Японски

Клетки MKN1 | 305589

Morphology Подобни на епител**Growth properties** Придържащи се

Регулаторни данни

Citation MKN1 (каталожен номер на Cytion: 305589)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1415

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: TP53, p.Val143Ala (с.428T>C)

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с TrypLE Express, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MKN1 | 305589

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MKN1 | 305589

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.