

Buňky MKN1 | 305589

Obecné informace

Description

MKN1 je lidská buněčná linie rakoviny žaludku odvozená od dospělého pacienta s špatně diferencovaným adenokarcinomem. Tato buněčná linie je široce využívána ve výzkumu rakoviny díky své relevanci při modelování progresu rakoviny žaludku, invaze a reakce na léčbu. Vyznačuje se mezenchymální morfologií, což naznačuje epiteliálně-mezenchymální přechod (EMT), proces zásadní pro metastázování rakoviny. Buněčná linie MKN1 se vyznačuje mírnou až nízkou expresí klíčových proteinů, jako je RhoA, což z ní činí nezbytný nástroj při studiu signálních drah spojených s buněčnou adhezí a motilitou.

Nedávný výzkum zdůrazňuje význam MKN1 při zkoumání role DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1), předpokládaného markeru rakovinných kmenových buněk, u rakoviny žaludku. Nadměrná exprese DCLK1 v buňkách MKN1 podporuje EMT a zvyšuje sekreci malých extracelulárních vezikul (sEV), které se podílejí na buněčné migraci a remodelaci mikroprostředí nádoru. Proteomická analýza sEV z buněk MKN1 s nadměrnou expresí DCLK1 identifikovala významné změny u proteinů podílejících se na migraci a adhezi, jako jsou STRAP a BCAM. Navíc se zdá, že kinázová aktivita DCLK1 reguluje výběr transportních proteinů uvnitř těchto vezikul, což podtrhuje její potenciál jako terapeutického cíle.

Studie zaměřené na mutaci RHOA (R129W) v buňkách MKN1 navíc odhalily její roli při změně signálních drah buněčné migrace a adheze, a to nezávisle na mutacích CDH1. Funkční testy ukazují, že tato mutace vede k vyššímu podílu aktivního stavu RhoA vázaného na GTP, což souvisí se zvýšenou buněčnou motilitou. Tyto poznatky činí z MKN1 robustní model pro analýzu genetických a molekulárních mechanismů ležících v základu patogeneze rakoviny žaludku a pro testování potenciálních terapeutických zásahů.

Organism

Člověk

Tissue

Žaludek

Disease

Adenoskvamózní karcinom

Metastatic site

Lymfatická uzlina

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Charakteristika

Age

72 let

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Morphology

Epitelu podobné

Buňky MKN1 | 305589

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

MKN1 (katalogové číslo Cytion 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekulární data

Mutational profile

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

Zpracování

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem TrypLE Express, a to 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky MKN1 | 305589

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky MKN1 | 305589

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.