

MKN1-celler | 305589

Generel information

Description

MKN1 er en human mavekræftcellelinje, der stammer fra en voksen patient med et dårligt differentieret adenokarcinom. Denne cellelinje anvendes i vid udstrækning i kræftforskning på grund af dens relevans i modellering af mavekræfts progression, invasion og respons på behandlinger. Den udviser en mesenkymlignende morfologi, hvilket tyder på epitel-til-mesenkym-overgang (EMT), en proces, der er afgørende for kræftmetastaser. MKN1-cellelinjen er kendetegnet ved sin moderate til lave ekspresion af nøgleproteiner som RhoA, hvilket gør den til et vigtigt redskab i undersøgelsen af signalveje knyttet til celleadhæsion og -motilitet.

Nyere forskning fremhæver MKN1's betydning for udforskningen af DCLK1's (Doublecortin-lignende kinase 1) rolle – en formodet markør for kræftstamceller – i mavekræft. Overekspresion af DCLK1 i MKN1-celler fremmer EMT og øger udskillelsen af små ekstracellulære vesikler (sEV'er), som spiller en rolle i cellemigration og omdannelse af tumorens mikromiljø. Proteomisk analyse af sEV'er fra MKN1-celler med overekspresion af DCLK1 har identificeret signifikante ændringer i proteiner, der er involveret i migration og adhæsion, såsom STRAP og BCAM. Desuden ser DCLK1's kinaseaktivitet ud til at regulere udvælgelsen af lastproteiner i disse vesikler, hvilket understreger dets potentiale som et terapeutisk mål.

Derudover har undersøgelser af RHOA-mutationen (R129W) i MKN1-celler afsløret dens rolle i ændringen af cellemigrations- og adhæsionsveje, uafhængigt af CDH1-mutationer. Funktionelle analyser viser, at mutationen resulterer i en højere aktiv GTP-bundet tilstand af RhoA, hvilket knytter den til øget cellemotilitet. Disse fund positionerer MKN1 som en robust model til at analysere de genetiske og molekylære mekanismer, der ligger til grund for mavekræftens patogenese, samt til at teste potentielle terapeutiske interventioner.

Organism

Menneske

Tissue

Mave

Disease

Adenoskvamøst karcinom

Metastatic site

Lymfeknude

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Karakteristika

Age

72 år

Gender

Mand

Ethnicity

Japansk

Morphology

Epitel-lignende

MKN1-celler | 305589

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

MKN1 (Cytion-katalognummer 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekylære data**Mutational profile**

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

Håndtering**Culture Medium**RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements**

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS uden calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med TrypLE Express, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

MKN1-celler | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

MKN1-celler | 305589

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.