

MKN1-Zellen | 305589

Allgemeine Informationen

Description

MKN1 ist eine menschliche Magenkrebs-Zelllinie, die von einem erwachsenen Patienten mit einem schlecht differenzierten Adenokarzinom stammt. Diese Zelllinie wird in der Krebsforschung häufig eingesetzt, da sie sich hervorragend zur Modellierung des Fortschreitens von Magenkrebs, der Invasion und des Ansprechens auf Therapien eignet. Sie weist eine mesenchymähnliche Morphologie auf, was auf eine epithel-mesenchymale Transition (EMT) hindeutet – einen Prozess, der für die Metastasierung von Krebs entscheidend ist. Die MKN1-Zelllinie zeichnet sich durch eine mäßige bis geringe Expression von Schlüsselproteinen wie RhoA aus, was sie zu einem unverzichtbaren Werkzeug bei der Untersuchung von Signalwegen im Zusammenhang mit Zelladhäsion und -motilität macht.

Jüngste Forschungsergebnisse unterstreichen die Bedeutung von MKN1 für die Erforschung der Rolle von DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1), einem mutmaßlichen Marker für Krebsstammzellen, bei Magenkrebs. Eine Überexpression von DCLK1 in MKN1-Zellen fördert die EMT und verstärkt die Sekretion kleiner extrazellulärer Vesikel (sEVs), die an der Zellmigration und der Umgestaltung der Tumormikroumgebung beteiligt sind. Die proteomische Analyse von sEVs aus DCLK1-überexprimierenden MKN1-Zellen hat signifikante Veränderungen bei Proteinen identifiziert, die an Migration und Adhäsion beteiligt sind, wie beispielsweise STRAP und BCAM. Darüber hinaus scheint die Kinaseaktivität von DCLK1 die Auswahl der Frachtproteine innerhalb dieser Vesikel zu regulieren, was sein Potenzial als therapeutisches Ziel unterstreicht.

Zudem haben Studien zur RHOA-Mutation (R129W) in MKN1-Zellen deren Rolle bei der Veränderung von Zellmigrations- und Adhäsionswegen aufgezeigt, unabhängig von CDH1-Mutationen. Funktionsassays zeigen, dass die Mutation zu einem höheren aktiven GTP-gebundenen Zustand von RhoA führt, was mit einer erhöhten Zellmotilität in Verbindung steht. Diese Erkenntnisse machen MKN1 zu einem robusten Modell für die Untersuchung der genetischen und molekularen Mechanismen, die der Pathogenese von Magenkrebs zugrunde liegen, sowie für die Erprobung potenzieller therapeutischer Interventionen.

Organism

Menschen

Tissue

Magen

Disease

Adenosquamöses Karzinom

Metastatic site

Lymphknoten

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Merkmale

Age

72 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Japanisch

MKN1-Zellen | 305589**Morphology** Epithelähnlich**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** MKN1 (Cytion-Katalognummer 305589)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1415**Biomolekulare Daten****Mutational profile** Mutation: TP53, p.Val143Ala (c.428T>C)**Handhabung****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Verwenden Sie für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml. Bedecken Sie dann die Zellen vollständig mit TrypLE Express, wobei Sie 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwenden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

MKN1-Zellen | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

MKN1-Zellen | 305589

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.