

Κύτταρα MKN1 | 305589

Γενικές πληροφορίες

Description

Η MKN1 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του στομάχου που προέρχεται από έναν ενήλικα ασθενή με αδενόκαρκωμα χαμηλού βαθμού διαφοροποίησης. Η κυτταρική αυτή σειρά χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο, λόγω της σημασίας της στη μοντελοποίηση της εξέλιξης του καρκίνου του στομάχου, της διήθησής του και της ανταπόκρισής του στις θεραπείες. Παρουσιάζει μεσεγχυματική μορφολογία, η οποία υποδηλώνει επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάπτωση (EMT), μια διαδικασία κρίσιμη για τη μετάσταση του καρκίνου. Η κυτταρική σειρά MKN1 διακρίνεται για τη μέτρια έως χαμηλή έκφραση βασικών πρωτεϊνών όπως η RhoA, γεγονός που την καθιστά απαραίτητο εργαλείο στη μελέτη των οδών σηματοδότησης που συνδέονται με την κυτταρική προσκόλληση και κινητικότητα.

Πρόσφατες έρευνες υπογραμμίζουν τη σημασία της σειράς MKN1 στη διερεύνηση του ρόλου της DCLK1 (κινάση τύπου Doublecortin 1), ενός υποθετικού δείκτη καρκινικών βλαστικών κυττάρων, στον καρκίνο του στομάχου. Η υπερέκφραση της DCLK1 στα κύτταρα MKN1 προάγει την EMT και ενισχύει την έκκριση μικρών εξωκυτταρικών κυστιδίων (sEVs), τα οποία εμπλέκονται στη μετακίνηση των κυττάρων και στην αναδιαμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Η πρωτεομική ανάλυση των sEVs από κύτταρα MKN1 που υπερεκφράζουν το DCLK1 έχει εντοπίσει σημαντικές μεταβολές σε πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μετανάστευση και την προσκόλληση, όπως η STRAP και η BCAM. Επιπλέον, η κινάση δραστηριότητα του DCLK1 φαίνεται να ρυθμίζει την επιλογή των πρωτεϊνών-φορτίου εντός αυτών των κυστιδίων, υπογραμμίζοντας το δυναμικό του ως θεραπευτικού στόχου.

Επιπλέον, μελέτες σχετικά με τη μετάλλαξη RHOA (R129W) σε κύτταρα MKN1 έχουν αποκαλύψει τον ρόλο της στην αλλοίωση των οδών κυτταρικής μετανάστευσης και προσκόλλησης, ανεξάρτητα από τις μεταλλάξεις του CDH1. Λειτουργικές αναλύσεις δείχνουν ότι η μετάλλαξη οδηγεί σε υψηλότερη ενεργή κατάσταση του RhoA δεσμευμένου με GTP, συνδέοντάς την με αυξημένη κυτταρική κινητικότητα. Αυτά τα ευρήματα καθιστούν το MKN1 ένα ισχυρό μοντέλο για την ανάλυση των γενετικών και μοριακών μηχανισμών που υποκρύπτονται στην παθογένεση του καρκίνου του στομάχου και για τη δοκιμή πιθανών θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Στομάχι

Disease

Αδενοσκληρωτικό καρκίνωμα

Metastatic site

Λεμφαδένας

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Χαρακτηριστικά

Age

72 χρόνια

Gender

Άντρας

Κύτταρα MKN1 | 305589

Ethnicity Ιαπωνικά**Morphology** Επιθηλιοειδής**Growth properties** Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation MKN1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305589)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1415

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με TrypLE Express, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα MKN1 | 305589**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα MKN1 | 305589

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.