

Cellules MKN1 | 305589

Informations générales

Description

MKN1 est une lignée cellulaire de cancer gastrique humain issue d'un patient adulte atteint d'un adénocarcinome peu différencié. Cette lignée cellulaire est largement utilisée dans la recherche sur le cancer en raison de sa pertinence pour modéliser la progression du cancer gastrique, son invasion et sa réponse aux traitements. Elle présente une morphologie de type mésenchymateuse, indicative d'une transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), un processus essentiel dans la métastase cancéreuse. La lignée cellulaire MKN1 se distingue par son expression modérée à faible de protéines clés telles que RhoA, ce qui en fait un outil essentiel pour l'étude des voies de signalisation liées à l'adhésion et à la motilité cellulaires.

Des recherches récentes soulignent l'importance de la lignée MKN1 dans l'étude du rôle de la DCLK1 (kinase de type Doublecortin 1), un marqueur putatif des cellules souches cancéreuses, dans le cancer gastrique. La surexpression de DCLK1 dans les cellules MKN1 favorise l'EMT et augmente la sécrétion de petites vésicules extracellulaires (sEV), qui sont impliquées dans la migration cellulaire et le remodelage du microenvironnement tumoral. L'analyse protéomique des sEV issues de cellules MKN1 surexprimant la DCLK1 a permis d'identifier des altérations significatives au niveau des protéines impliquées dans la migration et l'adhésion, telles que STRAP et BCAM. De plus, l'activité kinase de la DCLK1 semble réguler la sélection des protéines transportées au sein de ces vésicules, ce qui souligne son potentiel en tant que cible thérapeutique.

Par ailleurs, des études portant sur la mutation RHOA (R129W) dans les cellules MKN1 ont révélé son rôle dans la modification des voies de migration et d'adhésion cellulaires, indépendamment des mutations du gène CDH1. Des tests fonctionnels montrent que cette mutation entraîne un état plus actif de RhoA lié au GTP, ce qui explique l'augmentation de la motilité cellulaire. Ces résultats font de MKN1 un modèle solide pour analyser les mécanismes génétiques et moléculaires sous-jacents à la pathogenèse du cancer gastrique et pour tester des interventions thérapeutiques potentielles.

Organism Humain**Tissue** Estomac**Disease** Carcinome adénoquameux**Metastatic site** Ganglion lymphatique**Synonyms** MKN-1, MKN 1

Caractéristiques

Age 72 ans**Gender** Homme**Ethnicity** Japonais

Cellules MKN1 | 305589

Morphology De type épithélial**Growth properties** Adhérent

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utiliser 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec TrypLE Express, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules MKN1 | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules MKN1 | 305589

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.