

Cellule MKN1 | 305589

Informazioni generali

Description

MKN1 è una linea cellulare di carcinoma gastrico umano derivata da un paziente adulto affetto da adenocarcinoma scarsamente differenziato. Questa linea cellulare è ampiamente utilizzata nella ricerca sul cancro grazie alla sua rilevanza nella modellizzazione della progressione del carcinoma gastrico, dell'invasività e della risposta alle terapie. Presenta una morfologia di tipo mesenchimale, indicativa della transizione epiteliale-mesenchimale (EMT), un processo fondamentale nelle metastasi tumorali. La linea cellulare MKN1 si distingue per l'espressione da moderata a bassa di proteine chiave come RhoA, il che la rende uno strumento essenziale nello studio delle vie di segnalazione legate all'adesione e alla motilità cellulare.

Ricerche recenti evidenziano l'importanza della linea cellulare MKN1 nell'esplorazione del ruolo della DCLK1 (chinasi simile alla doublecortina 1), un marcatore putativo delle cellule staminali tumorali, nel cancro gastrico. La sovraespressione di DCLK1 nelle cellule MKN1 favorisce l'EMT e potenzia la secrezione di piccole vescicole extracellulari (sEV), implicate nella migrazione cellulare e nel rimodellamento del microambiente tumorale. L'analisi proteomica delle sEV provenienti da cellule MKN1 che sovraesprimono DCLK1 ha identificato alterazioni significative nelle proteine coinvolte nella migrazione e nell'adesione, quali STRAP e BCAM. Inoltre, l'attività chinasi di DCLK1 sembra regolare la selezione delle proteine cariche all'interno di queste vescicole, sottolineandone il potenziale come bersaglio terapeutico.

Inoltre, studi sulla mutazione RHOA (R129W) nelle cellule MKN1 hanno rivelato il suo ruolo nell'alterazione delle vie di migrazione e adesione cellulare, indipendentemente dalle mutazioni di CDH1. I test funzionali dimostrano che la mutazione determina un maggiore stato attivo di RhoA legato al GTP, collegandolo a una maggiore motilità cellulare. Questi risultati pongono MKN1 come un solido modello per analizzare i meccanismi genetici e molecolari alla base della patogenesi del cancro gastrico e per testare potenziali interventi terapeutici.

Organism

Umano

Tissue

Stomaco

Disease

Carcinoma adenosquamoso

Metastatic site

Linfonodo

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Caratteristiche

Age

72 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Giapponese

Morphology

Simile all'epitelio

Cellule MKN1 | 305589

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	MKN1 (codice catalogo Cytion 305589)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1415
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con TrypLE Express, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule MKN1 | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Cellule MKN1 | 305589

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.