

MKN1-cellen | 305589

Algemene informatie

Description

MKN1 is een menselijke maagkankercellijn die is afgeleid van een volwassen patiënt met een slecht gedifferentieerd adenocarcinoom. Deze cellijn wordt op grote schaal gebruikt in kankeronderzoek vanwege haar relevantie bij het modelleren van de progressie, invasie en respons op behandelingen van maagkanker. De cellijn vertoont een mesenchymachtige morfologie, wat wijst op een epitheliale-naar-mesenchymale overgang (EMT), een proces dat cruciaal is bij de uitzaaiing van kanker. De MKN1-celijn onderscheidt zich door een matige tot lage expressie van sleuteleiwiitten zoals RhoA, waardoor deze een essentieel hulpmiddel is bij het bestuderen van signaalroutes die verband houden met celadhesie en -motiliteit.

Recent onderzoek benadrukt het belang van MKN1 bij het verkennen van de rol van DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1), een vermoedelijke kankerstemcelmarker, bij maagkanker. Overexpressie van DCLK1 in MKN1-cellen bevordert de EMT en versterkt de afscheiding van kleine extracellulaire vesikels (sEV's), die een rol spelen bij celmigratie en de hermodellering van de tumor-micro-omgeving. Proteomische analyse van sEV's uit MKN1-cellen die DCLK1 tot overexpressie brengen, heeft significante veranderingen aan het licht gebracht in eiwitten die betrokken zijn bij migratie en adhesie, zoals STRAP en BCAM. Bovendien lijkt de kinaseactiviteit van DCLK1 de selectie van ladingseiwitten binnen deze vesikels te reguleren, wat het potentieel ervan als therapeutisch doelwit onderstreept.

Daarnaast hebben studies naar de RHOA-mutatie (R129W) in MKN1-cellen de rol ervan aan het licht gebracht bij het veranderen van de migratie- en adhesieroutes van cellen, onafhankelijk van CDH1-mutaties. Functionele testen tonen aan dat de mutatie leidt tot een toestand waarin RhoA in grotere mate aan actief GTP gebonden is, wat in verband wordt gebracht met verhoogde celmotiliteit. Deze bevindingen positioneren MKN1 als een robuust model voor het ontrafelen van de genetische en moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de pathogenese van maagkanker en voor het testen van mogelijke therapeutische interventies.

Organism

Mens

Tissue

Maag

Disease

Adenosquameus carcinoom

Metastatic site

Lymfeklier

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Kenmerken

Age

72 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Japans

MKN1-cellen | 305589

Morphology Epitheelachtig**Growth properties** Aanhangend

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met TrypLE Express, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Meng de cellen na incubatie voorzichtig met 10 ml medium om ze te resuspenden en centrifugeer vervolgens gedurende 3 minuten bij 300xg. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

MKN1-cellen | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150°C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37°C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78°C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196°C . Opslag bij -80°C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

MKN1-cellen | 305589

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.