

MKN1-celler | 305589

Generell informasjon

Description

MKN1 er en human magekreftcellelinje som stammer fra en voksen pasient med dårlig differensiert adenokarsinom. Denne cellelinjen er mye brukt i kreftforskning på grunn av sin relevans for modellering av magekrefts progresjon, invasjon og respons på behandlinger. Den har en mesenkym-lignende morfologi, noe som tyder på epitel-til-mesenkym-overgang (EMT), en prosess som er avgjørende for kreftmetastaser. MKN1-cellelinjen er kjent for sin moderate til lave ekspresjon av nøkkelproteiner som RhoA, noe som gjør den til et viktig verktøy i studiet av signalveier knyttet til celleadhesjon og -motilitet.

Nyere forskning understreker betydningen av MKN1 for å utforske rollen til DCLK1 (Doublecortin-lignende kinase 1), en antatt markør for kreftstamceller, i magekreft. Overekspresjon av DCLK1 i MKN1-celler fremmer EMT og øker utskillelsen av små ekstracellulære vesikler (sEV-er), som er involvert i cellemigrasjon og omforming av tumorens mikromiljø. Proteomisk analyse av sEV-er fra MKN1-celler med overekspresjon av DCLK1 har identifisert signifikante endringer i proteiner involvert i migrasjon og adhesjon, slik som STRAP og BCAM. Videre ser det ut til at DCLK1s kinaseaktivitet regulerer utvalget av lastproteiner i disse vesiklene, noe som understreker dets potensial som et terapeutisk mål.

I tillegg har studier av RHOA-mutasjonen (R129W) i MKN1-celler avdekket dens rolle i å endre cellemigrasjons- og adhesjonsveier, uavhengig av CDH1-mutasjoner. Funksjonelle analyser viser at mutasjonen resulterer i en mer aktiv GTP-bundet tilstand av RhoA, noe som knytter den til økt cellemotilitet. Disse funnene posisjonerer MKN1 som en robust modell for å kartlegge genetiske og molekylære mekanismer som ligger til grunn for patogenesen av magekreft og for å teste potensielle terapeutiske tiltak.

Organism

Menneskelig

Tissue

Mage

Disease

Adenoskvamøst karsinom

Metastatic site

Lymfeknute

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Kjennetegn

Age

72 år

Gender

Mann

Ethnicity

Japansk

Morphology

Epitel-lignende

MKN1-celler | 305589

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

MKN1 (Cytion-katalognummer 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekylære data

Mutational profile

Mutasjon: TP53, p.Val143Ala (c.428T>C)

Håndtering

Culture Medium

RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)

Supplements

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber, og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med TrypLE Express, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

MKN1-celler | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse

MKN1-celler | 305589

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.