

## Komórki MKN1 | 305589

## Informacje ogólne

## Description

MKN1 to ludzka linia komórkowa raka żołądka pochodząca od dorosłego pacjenta z gruczolakorakiem słabo zróżnicowanym. Linia ta jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem ze względu na jej przydatność w modelowaniu progresji raka żołądka, inwazji nowotworowej oraz odpowiedzi na terapię. Wykazuje ona morfologię podobną do mezenchymalnej, co wskazuje na przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT) – proces o kluczowym znaczeniu w przerzutach nowotworowych. Linia komórkowa MKN1 wyróżnia się umiarkowaną lub niską ekspresją kluczowych białek, takich jak RhoA, co czyni ją niezbędnym narzędziem w badaniu szlaków sygnałowych związanych z adhezją i ruchliwością komórek.

Najnowsze badania podkreślają znaczenie linii MKN1 w badaniu roli DCLK1 (kinaza podobna do doublecortiny 1), potencjalnego markera komórek macierzystych nowotworu, w raku żołądka. Nadekspresja DCLK1 w komórkach MKN1 sprzyja EMT i zwiększa wydzielanie małych pęcherzyków pozakomórkowych (sEV), które mają wpływ na migrację komórek i przebudowę mikrośrodowiska nowotworowego. Analiza proteomiczna sEV pochodzących z komórek MKN1 wykazujących nadekspresję DCLK1 pozwoliła zidentyfikować znaczące zmiany w białkach zaangażowanych w migrację i adhezję, takich jak STRAP i BCAM. Ponadto aktywność kinazowa DCLK1 wydaje się regulować dobór białek ładunkowych w tych pęcherzykach, co podkreśla jej potencjał jako celu terapeutycznego.

Ponadto badania dotyczące mutacji RHOA (R129W) w komórkach MKN1 ujawniły jej rolę w zmianie szlaków migracji i adhezji komórkowej, niezależnie od mutacji CDH1. Testy funkcjonalne wykazują, że mutacja ta powoduje zwiększenie aktywności RhoA w stanie związanym z GTP, co wiąże się ze zwiększoną ruchliwością komórek. Wyniki te sprawiają, że MKN1 stanowi solidny model do analizy genetycznych i molekularnych mechanizmów leżących u podstaw patogenezy raka żołądka oraz do testowania potencjalnych interwencji terapeutycznych.

**Organism** Człowiek**Tissue** Żołądek**Disease** Rak gruczolowo-płaskonabłonkowy**Metastatic site** Węzeł chłonny**Synonyms** MKN-1, MKN 1

## Charakterystyka

**Age** 72 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Japoński

## Komórki MKN1 | 305589

**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent

## Dane regulacyjne

**Citation** MKN1 (numer katalogowy Cytion 305589)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1415

## Dane biomolekularne

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

## Obsługa

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki preparatem TrypLE Express, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut w celu ich odłączenia. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

### Komórki MKN1 | 305589

#### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

#### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

#### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

#### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Komórki MKN1 | 305589

### Kontrola jakości i analiza molekularna

#### **Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.