

Células MKN1 | 305589

Informações gerais

Description

A MKN1 é uma linha celular de cancro gástrico humano derivada de um doente adulto com adenocarcinoma pouco diferenciado. Esta linha celular é amplamente utilizada na investigação do cancro devido à sua relevância na simulação da progressão, invasão e resposta do cancro gástrico às terapias. Apresenta uma morfologia de tipo mesenquimal, indicativa de transição epitelial-mesenquimal (EMT), um processo crucial na metástase do cancro. A linha celular MKN1 destaca-se pela sua expressão moderada a baixa de proteínas-chave como a RhoA, tornando-a uma ferramenta essencial no estudo das vias de sinalização associadas à adesão e motilidade celular.

Estudos recentes destacam a importância da MKN1 na exploração do papel da DCLK1 (quinase semelhante à Doublecortin 1), um marcador putativo de células estaminais cancerígenas, no cancro gástrico. A superexpressão de DCLK1 nas células MKN1 promove a EMT e aumenta a secreção de pequenas vesículas extracelulares (sEVs), que estão implicadas na migração celular e na remodelação do microambiente tumoral. A análise proteómica das sEVs provenientes de células MKN1 com superexpressão de DCLK1 identificou alterações significativas nas proteínas envolvidas na migração e adesão, tais como STRAP e BCAM. Além disso, a atividade quinase da DCLK1 parece regular a seleção das proteínas transportadas por estas vesículas, sublinhando o seu potencial como alvo terapêutico.

Além disso, estudos envolvendo a mutação RHOA (R129W) em células MKN1 revelaram o seu papel na alteração das vias de migração e adesão celular, independentemente das mutações no CDH1. Ensaio funcionais demonstram que a mutação resulta num estado mais ativo de RhoA ligado ao GTP, associando-a a uma motilidade celular aumentada. Estas descobertas posicionam o MKN1 como um modelo robusto para a análise dos mecanismos genéticos e moleculares subjacentes à patogénese do cancro gástrico e para o teste de potenciais intervenções terapêuticas.

Organism

Humano

Tissue

Estômago

Disease

Carcinoma adenoescamoso

Metastatic site

Nódulo linfático

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Caraterísticas

Age

72 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Japonês

Células MKN1 | 305589**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** MKN1 (número de catálogo da Cytion 305589)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1415**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutação: TP53, p.Val143Ala (c.428T>C)**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Para frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, para frascos T75, utilizar 5-10 ml. De seguida, cobrir completamente as células com TrypLE Express, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células MKN1 | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células MKN1 | 305589

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.