

Bunky MKN1 | 305589**Všeobecné informácie****Description**

MKN1 je ľudská bunková línia rakoviny žalúdka odobratá od dospelého pacienta s nízko diferencovaným adenokarcinómom. Táto bunková línia sa široko využíva vo výskume rakoviny vďaka jej významu pri modelovaní progresie rakoviny žalúdka, invázie a reakcie na liečbu. Vyznačuje sa morfológiou podobnou mezenchýmu, čo svedčí o epiteliálno-mezenchýmovej transformácii (EMT), procese kľúčovom pre metastázovanie rakoviny. Bunková línia MKN1 je známa strednou až nízkou expresiou kľúčových proteínov, ako je RhoA, čo z nej robí nevyhnutný nástroj pri štúdiu signálnych dráh spojených s bunkovou adhéziou a motilitou.

Najnovšie výskumy zdôrazňujú dôležitosť MKN1 pri skúmaní úlohy DCLK1 (Doublecortin-like kinase 1), predpokladaného markera rakovinových kmeňových buniek, pri rakovine žalúdka. Nadmerná expresia DCLK1 v bunkách MKN1 podporuje EMT a zvyšuje sekréciu malých extracelulárnych vezikúl (sEV), ktoré sa podieľajú na migrácii buniek a prestavbe mikroprostredia nádoru. Proteomická analýza sEV z buniek MKN1 s nadmernou expresiou DCLK1 identifikovala významné zmeny v proteínoch podieľajúcich sa na migrácii a adhézii, ako sú STRAP a BCAM. Okrem toho sa zdá, že kinázová aktivita DCLK1 reguluje výber proteínov v týchto vezikulách, čo podčiarkuje jej potenciál ako terapeutického cieľa.

Okrem toho štúdie zamerané na mutáciu RHOA (R129W) v bunkách MKN1 odhalili jej úlohu pri zmene dráh bunkovej migrácie a adhézie, nezávisle od mutácií CDH1. Funkčné testy ukazujú, že táto mutácia vedie k vyššiemu podielu aktívneho stavu RhoA viazaného na GTP, čo súvisí so zvýšenou pohyblivosťou buniek. Tieto zistenia robia z MKN1 spoľahlivý model na skúmanie genetických a molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom patogenézy rakoviny žalúdka, a na testovanie potenciálnych terapeutických intervencií.

Organism

Ľudské

Tissue

Žalúdok

Disease

Adenoskvamózny karcinóm

Metastatic site

Lymfatická uzlina

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Charakteristika**Age**

72 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Morphology

Epitelu podobné

Bunky MKN1 | 305589

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Regulačné údaje

Citation	MKN1 (katalógové číslo Cytion 305589)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výroby Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
--------------------	---------------------------

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

Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne zakryte prípravkom TrypLE Express, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
---------------------	--

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.
----------------------	---

Bunky MKN1 | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Bunky MKN1 | 305589

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.