

MKN1-celice | 305589

Splošne informacije

Description

MKN1 je človeška celična linija raka želodca, pridobljena iz odraslega bolnika z slabo diferenciranim adenokarcinomom. Ta celična linija se pogosto uporablja v raziskavah raka zaradi svoje pomembnosti pri modeliranju napredovanja raka želodca, invazije in odziva na terapije. Ima mezenhimalno podobno morfologijo, kar kaže na epitelno-mezenhimalni prehod (EMT), proces, ki je ključen pri metastaziranju raka. Celična linija MKN1 se odlikuje po zmerni do nizki ekspresiji ključnih beljakovin, kot je RhoA, zaradi česar je nepogrešljivo orodje pri preučevanju signalnih poti, povezanih s celično adhezijo in motilnostjo.

Nedavne raziskave poudarjajo pomen MKN1 pri raziskovanju vloge DCLK1 (kinaza 1, podobna Doublecortinu), domnevnega markerja rakovnih matičnih celic, pri raku želodca. Prekomerna ekspresija DCLK1 v celicah MKN1 spodbuja EMT in poveča izločanje majhnih ekstracelularnih veziklov (sEV), ki so vpleteni v migracijo celic in preoblikovanje mikrookolja tumorja. Proteomska analiza sEV iz celic MKN1 s prekomernim izražanjem DCLK1 je pokazala pomembne spremembe v beljakovinah, vpletenih v migracijo in adhezijo, kot sta STRAP in BCAM. Poleg tega se zdi, da kinazna aktivnost DCLK1 uravnava izbor tovrstnih beljakovin znotraj teh veziklov, kar poudarja njegov potencial kot terapevtskega cilja.

Poleg tega so študije, ki so vključevale mutacijo RHOA (R129W) v celicah MKN1, razkrile njeno vlogo pri spreminjanju poti celične migracije in adhezije, neodvisno od mutacij CDH1. Funkcionalni testi kažejo, da mutacija povzroča višjo stopnjo aktivnega stanja RhoA, vezanega na GTP, kar jo povezuje s povečano celično motilnostjo. Ti izsledki uvrščajo MKN1 med zanesljive modele za raziskovanje genetskih in molekularnih mehanizmov, ki so osnova patogeneze raka želodca, ter za preizkušanje potencialnih terapevtskih posegov.

Organism

Človek

Tissue

Želodec

Disease

Adenoskvamozni karcinom

Metastatic site

Limfna vozlišča

Synonyms

MKN-1, MKN 1

Značilnosti

Age

72 let

Gender

Moški

Ethnicity

Japonski

Morphology

Epitelijam podobni

MKN1-celice | 305589

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

MKN1 (katalogska številka Cytion 305589)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1415

Biomolekularni podatki

Mutational profile

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice v celoti prekrijte z raztopino TrypLE Express, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

MKN1-celice | 305589

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

MKN1-celice | 305589

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.