

Buňky KMH-2 | 305142

Obecné informace

Description

KMH-2 je lidská buněčná linie anaplastického karcinomu štítné žlázy (ATC) odvozená od pacienta s rychle progredující a smrtelnou formou karcinomu štítné žlázy. Anaplastický karcinom štítné žlázy je jedním z nejagresivnějších a nejsmrtelnějších zhoubných nádorů štítné žlázy, který se vyznačuje rychlým růstem a rezistencí na konvenční léčbu. Buňky KMH-2 byly vytvořeny z biopsie primárního nádoru předtím, než pacient podstoupil jakoukoli chemoterapii nebo radioterapii. Tyto buňky jsou velmi důležité pro studium patofyziologie ATC i pro testování účinnosti nových terapeutických látek.

Buněčná linie KMH-2 vykazuje při kultivaci in vitro vřetenovitou morfologii, která je typická pro mnoho buněk anaplastického karcinomu štítné žlázy. Tyto buňky vykazují rezistenci vůči mnoha chemoterapeutickým látkám, včetně cisplatinu, doxorubicinu, etoposidu a pepleomycinu, což odráží klinickou náročnost léčby ATC. Chemorezistence u buněk KMH-2 byla přisuzována expresi mRNA proteinu asociovaného s více léky (MRP), ačkoli neexprimují mRNA mdr-1 a mdr-3 spojené s P-glykoproteinem, což naznačuje, že mechanismus jejich rezistence na léčiva je nezávislý na P-glykoproteinu. Tato rezistence vůči chemoterapii činí z KMH-2 cenný model pro zkoumání alternativních léčebných strategií.

Pokud jde o růstové charakteristiky, buňky KMH-2 mají relativně dlouhou dobu zdvojení a jejich tumorigenita byla potvrzena v xenotransplantačních modelech s použitím athymických nahých myší. Tyto buňky však vyžadovaly specifické podmínky pro zvýšení proliferace in vivo, například použití malé plastové destičky pro usnadnění růstu po inokulaci. Chromozomální analýza KMH-2 odhalila četné abnormality, což je běžný rys agresivních karcinomů, což dále podtrhuje jejich užitečnost při studiu genetických základů anaplastického karcinomu štítné žlázy.

Organism	Člověk
Tissue	Štítná žláza
Disease	Anaplastický karcinom štítné žlázy
Metastatic site	Pleurální výpotek
Synonyms	KMHDASH2, KMH2

Charakteristika

Age	71 let
Gender	Muži
Ethnicity	Asijské
Morphology	Vřetenovité buňky s obřími buňkami

Buňky KMH-2 | 305142

Growth properties	Adherentní
--------------------------	------------

Regulační údaje

Citation	KMH-2 (katalogové číslo Cytion 305142)
-----------------	--

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_S641
-----------------------------	-----------

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
-----------------------	--

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

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

Doubling time	58 hodin
----------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	1:2 až 1:5
--------------------	------------

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

Buňky KMH-2 | 305142

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KMH-2 | 305142

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 9
D16S539: 9,12
D5S818: 12,13
D7S820: 11
TH01: 9
TPOX: 8,11
vWA: 14,15
D3S1358: 15
D21S11: 30,32.2
D18S51: 17
Penta E: 15
Penta D: 9,10
D8S1179: 13
FGA: 20,22
D6S1043: 11
D2S1338: 18
D12S391: 21,22
D19S433: 15,15.2