

Κύτταρα ΚΜΗ-2 | 305142

Γενικές πληροφορίες

Description

Η ΚΜΗ-2 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά αναπλαστικού καρκινώματος του θυρεοειδούς (ATC) που προέρχεται από έναν άνδρα ασθενή με ταχέως εξελισσόμενη και θανατηφόρα μορφή καρκίνου του θυρεοειδούς. Το αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς είναι μία από τις πιο επιθετικές και θανατηφόρες κακοήθειες του θυρεοειδούς, που χαρακτηρίζεται από την ταχεία ανάπτυξη και την αντοχή στις συμβατικές θεραπείες. Τα κύτταρα ΚΜΗ-2 δημιουργήθηκαν από βιοψία του πρωτοπαθούς όγκου πριν ο ασθενής υποβληθεί σε χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία. Τα κύτταρα αυτά είναι εξαιρετικά σημαντικά για τη μελέτη της παθοφυσιολογίας του ATC, καθώς και για τη δοκιμή της αποτελεσματικότητας νέων θεραπευτικών παραγόντων.

Η κυτταρική σειρά ΚΜΗ-2 παρουσιάζει μορφολογία ατρακτοειδούς σχήματος όταν καλλιεργείται *in vitro*, η οποία είναι χαρακτηριστική για πολλά κύτταρα αναπλαστικού καρκινώματος του θυρεοειδούς. Τα κύτταρα αυτά έχουν επιδείξει ανθεκτικότητα σε πολλαπλούς χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της σισπλατίνης, της δοξορουβικίνης, της ετοποσίδης και της πεπλομοκίνης, γεγονός που αντικατοπτρίζει την κλινική πρόκληση της θεραπείας του ATC. Η χημειοαντίσταση στα κύτταρα ΚΜΗ-2 έχει αποδοθεί στην έκφραση του mRNA της πρωτεΐνης που σχετίζεται με την πολυφαρμακευτική αντίσταση (MRP), αν και δεν εκφράζουν τα mRNA *mdr-1* και *mdr-3* που σχετίζονται με την P-γλυκοπρωτεΐνη, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο μηχανισμός αντίστασής τους στα φάρμακα είναι ανεξάρτητος από την P-γλυκοπρωτεΐνη. Αυτή η αντίσταση στη χημειοθεραπεία καθιστά το ΚΜΗ-2 ένα πολύτιμο μοντέλο για τη διερεύνηση εναλλακτικών στρατηγικών θεραπείας.

Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης, τα κύτταρα ΚΜΗ-2 έχουν σχετικά μεγάλους χρόνους διπλασιασμού και η καρκινικότητά τους έχει επιβεβαιωθεί σε μοντέλα ξενομεταμόσχευσης με τη χρήση αθυμικών γυμνών ποντικών. Ωστόσο, τα κύτταρα αυτά απαιτούσαν ειδικές συνθήκες για την ενίσχυση του πολλαπλασιασμού *in vitro*, όπως η χρήση μιας μικροσκοπικής πλαστικής πλάκας για τη διευκόλυνση της ανάπτυξης μετά τον εμβολιασμό. Η χρωμοσωμική ανάλυση των ΚΜΗ-2 αποκάλυψε πολλαπλές ανωμαλίες, ένα κοινό χαρακτηριστικό σε επιθετικούς καρκίνους, γεγονός που υπογραμμίζει περαιτέρω τη χρησιμότητά τους στη μελέτη των γενετικών βάσεων του αναπλαστικού καρκινώματος του θυρεοειδούς.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Θυρεοειδής

Disease Αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς αδένα

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

Synonyms ΚΜΗDASH2, ΚΜΗ2

Χαρακτηριστικά

Age 71 χρόνια

Gender Άντρας

Κύτταρα ΚΜΗ-2 | 305142**Ethnicity** Ασιατικό**Morphology** Ατρακτοειδή κύτταρα με γιγαντιαία κύτταρα**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** ΚΜΗ-2 (αριθμός καταλόγου Cytion 305142)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_S641**Βιομοριακά δεδομένα****Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 58 ώρες**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμειξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα KMH-2 | 305142**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα KMH-2 | 305142

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.