

KMH-2 rakud | 305142

Üldine teave

Description

KMH-2 on inimese anaplastilise kilpnäärmekartsinoomi (ATC) rakuliin, mis on saadud meessoost patsiendilt, kellel on kiiresti progresseeruv ja surmaga lõppev kilpnäärmevähk. Anaplastiline kilpnäärmekartsinoom on üks kõige agressiivsemaid ja surmaga lõppevaid kilpnäärme pahaloomulisi haigusi, mida iseloomustab kiire kasv ja resistentsus tavapäraste ravimeetodite suhtes. KMH-2 rakud loodi esmase kasvaja biopsiast enne seda, kui patsient sai keemia- või kiiritusravi. Need rakud on väga olulised ATC patofüsioloogia uurimiseks ning uute raviainete tõhususe testimiseks.

KMH-2 rakuliinil on in vitro kasvatamisel spindlikujuline morfoloogia, mis on tüüpiline paljudele anaplastilise kilpnäärmekartsinoomi rakkudele. Need rakud on näidanud resistentsust mitmete kemoterapeutiliste ainete, sealhulgas tsisplatiini, doksorubitsiini, etoposiidi ja pepleomütsiini suhtes, mis peegeldab ATC ravimise kliinilisi probleeme. KMH-2 rakkude kemoresistentsust on seostatud multiresistentsusega seotud valgu (MRP) mRNA ekspressiooniga, kuigi nad ei ekspresseeri P-glükoproteiiniga seotud mdr-1 ja mdr-3 mRNAsid, mis viitab sellele, et nende ravimresistentsuse mehhanism on P-glükoproteiinist sõltumatu. Selline resistentsus keemiaravi suhtes muudab KMH-2 väärtuslikuks mudeliks alternatiivsete ravistrateegiatega uurimiseks.

KMH-2 rakkude kasvuomadused on suhteliselt pika kahekordistumisaegadega ja nende kasvajate kasvavust on kinnitatud ksenotransplantatsioonimudelites, kus kasutati atüümseid alasti hiiri. Need rakud vajavad siiski spetsiifilisi tingimusi, et suurendada proliferatsiooni in vivo, näiteks väikese plastplaadi kasutamist, et hõlbustada kasvu pärast inokulatsiooni. KMH-2 kromosoomianalüüs näitas mitmeid kõrvalekaldeid, mis on agressiivsete vähkkasvajate puhul tavaline tunnus, mis rõhutab veelgi nende kasulikkust anaplastilise kilpnäärmekartsinoomi geneetiliste aluste uurimisel.

Organism	Inimene
Tissue	Kilpnääre
Disease	Kilpnäärme anaplastiline kartsinoom
Metastatic site	Pleuraefusioon
Synonyms	KMHDASH2, KMH2

Omadused

Age	71 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Aasia
Morphology	Spindlikujulised rakud koos hiiglaslike rakkudega

KMH-2 rakud | 305142

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation KMH-2 (Cytioni katalooginumber 305142)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_S641

Biomolekulaarsed andmed**Töötlemine**

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 58 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KMH-2 rakud | 305142

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KMH-2 rakud | 305142

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.