

KMH-2 sejtek | 305142

Általános információk

Description

A KMH-2 egy humán anaplasztikus pajzsmirigy-rák (ATC) sejtvonal, amely egy férfi beteg-től származik, aki a pajzsmirigy-rák egy gyorsan előrehaladó és halálos kimenetű formájában szenved. Az anaplasztikus pajzsmirigy-rák az egyik legagresszívabb és leghalálosabb pajzsmirigy rosszindulatú daganat, amelyet gyors növekedés és a hagyományos terápiákkal szembeni rezisztencia jellemez. A KMH-2 sejteket a primer tumor biopsziájából állították elő, mielőtt a beteg kemoterápián vagy sugárkezelésen esett volna át. Ezek a sejtek rendkívül fontosak az ATC patofiziológiájának tanulmányozásához, valamint az új terápiás szerek hatékonyságának teszteléséhez.

A KMH-2 sejtvonal in vitro tenyésztés során orsó alakú morfológiát mutat, ami számos anaplasztikus pajzsmirigy-rákos sejtre jellemző. Ezek a sejtek több kemoterápiás szerrel, többek között ciszplatinnal, doxorubicinnel, etopoziddal és pepleomicinnel szemben mutattak rezisztenciát, ami tükrözi az ATC kezelésének klinikai kihívását. A KMH-2 sejtek kemorezisztenciáját a multidrogrezisztencia-asszociált fehérje (MRP) mRNS expressziójának tulajdonították, bár a sejtek nem expresszálják a P-glikoproteinhez kapcsolódó mdr-1 és mdr-3 mRNS-t, ami arra utal, hogy a gyógyszerrezisztencia mechanizmusa független a P-glikoproteintól. Ez a kemoterápiával szembeni rezisztencia teszi a KMH-2-t értékes modellé az alternatív kezelési stratégiák vizsgálatához.

A növekedési jellemzőket tekintve a KMH-2 sejtek viszonylag hosszú megduplázódási idővel rendelkeznek, és tumorigenitást athymikus meztelen egerek segítségével végzett xenotranszplantációs modellekben igazolták. Ezeknek a sejteknek azonban speciális körülményekre volt szükségük az in vivo proliferáció fokozásához, például egy apró műanyag lemez használatára a növekedés elősegítése érdekében az inokulációt követően. A KMH-2 kromoszómaelemzése több rendellenességet mutatott ki, ami az agresszív rákok gyakori jellemzője, és ez még inkább kiemeli hasznosságukat az anaplasztikus pajzsmirigy-rák genetikai hátterének tanulmányozásában.

Organism

Emberi

Tissue

Pajzsmirigy

Disease

Pajzsmirigy anaplasztikus karcinóma

Metastatic site

Mellhártya folyadékgyülem

Synonyms

KMHDASH2, KMH2

Jellemzők

Age

71 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Ázsiai

KMH-2 sejtek | 305142

Morphology Orsó alakú sejtek óriás sejtekkel**Growth properties** Adherent

Szabályozási adatok

Citation KMH-2 (Cytion katalógusszám: 305142)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_S641

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 58 óra**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

KMH-2 sejtek | 305142

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.