

KMH-2 ląstelės | 305142

Bendra informacija

Description

KMH-2 yra žmogaus anaplastinės skydliaukės karcinomos (ATC) ląstelių linija, gauta iš vyro, sergančio sparčiai progresuojančia ir mirtina skydliaukės vėžio forma. Anaplastinė skydliaukės karcinoma yra vienas agresyviausių ir mirtiniausių skydliaukės piktybinių navikų, kuriam būdingas greitas augimas ir atsparumas įprastiniam gydymui. KMH-2 ląstelės buvo gautos iš pirminio naviko biopsijos prieš pacientui taikant bet kokią chemoterapiją ar radioterapiją. Šios ląstelės yra labai svarbios tiriant ATC patofiziologiją, taip pat bandant naujų terapinių preparatų veiksmingumą.

Auginant KMH-2 ląstelių liniją in vitro, ji pasižymi verpstės formos morfologija, kuri būdinga daugeliui anaplastinės skydliaukės karcinomos ląstelių. Šios ląstelės yra atsparios daugeliui chemoterapinių preparatų, įskaitant cisplatiną, doksorubiciną, etopozidą ir pepleomiciną, o tai rodo klinikinį ATC gydymo iššūkį. KMH-2 ląstelių chemorezistentiškumas siejamas su daugeliu atsparumo vaistams baltymų (angl. multidrug resistance-associated protein, MRP) mRNA raiška, nors jos neišreiškia mdr-1 ir mdr-3 mRNA, susijusių su P-glikoproteinu, o tai rodo, kad jų atsparumo vaistams mechanizmas nepriklauso nuo P-glikoproteino. Dėl šio atsparumo chemoterapijai KMH-2 yra vertingas modelis alternatyvioms gydymo strategijoms tirti.

KMH-2 ląstelės pasižymi palyginti ilgu dvigubėjimo laiku, o jų navikiškumas buvo patvirtintas ksenotransplantacijos modeliuose, naudojant athimines nude peles. Tačiau šioms ląstelėms reikėjo specialių sąlygų, kad jos geriau daugintųsi in vivo, pavyzdžiui, naudoti mažą plastikinę plokštelę, kad būtų lengviau augti po inokuliacijos. KMH-2 chromosominė analizė atskleidė daugybę anomalijų, o tai būdinga agresyviems vėžiniams susirgimams, ir tai dar labiau pabrėžia jų naudingumą tiriant anaplastinės skydliaukės karcinomos genetinius pagrindus.

Organism	Žmogus
Tissue	Skydliaukė
Disease	Skydliaukės anaplastinė karcinoma
Metastatic site	Pleuros išskyros
Synonyms	KMHDASH2, KMH2

Charakteristikos

Age	71 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Azijos
Morphology	Verpstės formos ląstelės su milžiniškomis ląstelėmis

KMH-2 ląstelės | 305142

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation KMH-2 (Cytion katalogo numeris 305142)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_S641

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 58 valandos

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

KMH-2 ląstelės | 305142

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

KMH-2 ląstelės | 305142

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.