

KMH-2 šūnas | 305142

Vispārīga informācija

Description

KMH-2 ir cilvēka anaplastiskās vairogdziedzera karcinomas (ATC) šūnu līnija, kas iegūta no vīrieša pacienta ar strauji progresējošu un letālu vairogdziedzera vēža formu. Anaplastiskā vairogdziedzera karcinoma ir viens no agresīvākajiem un letālākajiem vairogdziedzera ļaundabīgajiem audzējiem, kam raksturīga strauja augšana un rezistence pret tradicionālo terapiju. KMH-2 šūnas tika iegūtas no primārā audzēja biopsijas, pirms pacientam tika veikta ķīmijterapija vai staru terapija. Šīs šūnas ir ļoti noderīgas ATC patofizioloģijas izpētei, kā arī jaunu terapeitisko līdzekļu efektivitātes pārbaudei.

KMH-2 šūnu līnijai, kultivējot in vitro, piemīt vārpstas formas morfoloģija, kas raksturīga daudzām anaplastiskās vairogdziedzera karcinomas šūnām. Šīm šūnām ir konstatēta rezistence pret vairākiem ķīmijterapeitiskiem līdzekļiem, tostarp cisplatīnu, doksorubicīnu, etopozīdu un pepleomicīnu, kas atspoguļo klīnisko izaicinājumu ATC ārstēšanā. KMH-2 šūnu ķīmoresistence ir saistīta ar multirezistences proteīna (MRP) mRNS ekspresiju, lai gan tās neekspresē mdr-1 un mdr-3 mRNS, kas saistītas ar P-glikoproteīnu, kas liecina, ka to rezistences pret zālēm mehānisms ir neatkarīgs no P-glikoproteīna. Šī rezistence pret ķīmijterapiju padara KMH-2 par vērtīgu modeli alternatīvu ārstēšanas stratēģiju izpētei.

Attiecībā uz augšanas īpašībām KMH-2 šūnām ir salīdzinoši ilgs dubultošanās laiks, un to audzēja aktivitāte ir apstiprināta ksenotransplantācijas modeļos, izmantojot athimiskās nude peles. Tomēr šīm šūnām bija nepieciešami īpaši apstākļi, lai veicinātu proliferāciju in vivo, piemēram, nelielas plastmasas plāksnītes izmantošana, lai veicinātu augšanu pēc inokulācijas. KMH-2 hromosomu analīze atklāja vairākas anomālijas, kas ir raksturīga agresīviem vēža veidiem, un tas vēl vairāk uzsver to lietderību anaplastiskās vairogdziedzera karcinomas ģenētisko pamatu pētniecībā.

Organism	Cilvēks
Tissue	Vairogdziedzera
Disease	Vairogdziedzera anaplastiskā karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	KMHDASH2, KMH2

Raksturojums

Age	71 gads
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Āzijas
Morphology	Verpstas formas šūnas ar milzu šūnām

KMH-2 šūnas | 305142

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	KMH-2 (Cytion kataloga numurs 305142)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Biomolekulārie dati**Darbs ar**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

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

Doubling time	58 stundas
----------------------	------------

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielīpušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

KMH-2 šūnas | 305142

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KMH-2 šūnas | 305142

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.