

KMH-2-celler | 305142

Generell informasjon

Description

KMH-2 er en human anaplastisk thyreoideakarsinom (ATC)-cellelinje som stammer fra en mannlig pasient med en raskt utviklende og dødelig form for kreft i skjoldbruskkjertelen. Anaplastisk thyreoideakreft er en av de mest aggressive og dødelige kreftformene i skjoldbruskkjertelen, og kjennetegnes av rask vekst og resistens mot konvensjonell behandling. KMH-2-celler ble etablert fra en biopsi av primærsvulsten før pasienten gjennomgikk kjemoterapi eller strålebehandling. Disse cellene er svært relevante for å studere patofysiologien ved ATC, samt for å teste effekten av nye terapeutiske midler.

KMH-2-cellelinjen har en spindelformet morfologi når den dyrkes in vitro, noe som er typisk for mange anaplastiske thyreoideakarsinomceller. Disse cellene har vist resistens mot flere kjemoterapeutiske midler, blant annet cisplatin, doksorubicin, etoposid og pepleomycin, noe som gjenspeiler den kliniske utfordringen ved behandling av ATC. Kjemoresistensen i KMH-2-celler har blitt tilskrevet uttrykket av MRP-mRNA (multidrug resistance-associated protein), selv om de ikke uttrykker mdr-1- og mdr-3-mRNA assosiert med P-glykoprotein, noe som tyder på at deres resistensmekanisme er uavhengig av P-glykoprotein. Denne resistensen mot kjemoterapi gjør KMH-2 til en verdifull modell for å undersøke alternative behandlingsstrategier.

KMH-2-celler har relativt lang fordoblingstid når det gjelder vekstegenskaper, og deres tumorigenisitet har blitt bekreftet i xenotransplantasjonsmodeller med athymiske nakenmus. Disse cellene krevde imidlertid spesifikke forhold for å øke proliferasjonen in vivo, for eksempel bruk av en liten plastplate for å lette veksten etter inokulering. Kromosomanalyser av KMH-2 har avdekket flere abnormiteter, et vanlig trekk ved aggressive kreftformer, noe som ytterligere understreker nytten av disse cellene i studier av det genetiske grunnlaget for anaplastisk thyreoideakarsinom.

Organism

Menneskelig

Tissue

Skjoldbruskkjertelen

Disease

Anaplastisk karsinom i skjoldbruskkjertelen

Metastatic site

Pleuraeffusjon

Synonyms

KMHDASH2, KMH2

Kjennetegn

Age

71 år

Gender

Mann

Ethnicity

Asiatisk

Morphology

Spindelformede celler med kjempeceller

KMH-2-celler | 305142

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

KMH-2 (Cytion katalognummer 305142)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_S641

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium

RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)

Supplements

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

58 timer

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio

1:2 til 1:5

Fluid renewal

2 til 3 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

KMH-2-celler | 305142**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

KMH-2-celler | 305142

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 10,11

D13S317: 9

D16S539: 9,12

D5S818: 12,13

D7S820: 11

TH01: 9

TPOX: 8,11

vWA: 14,15

D3S1358: 15

D21S11: 30,32.2

D18S51: 17

Penta E: 15

Penta D: 9,10

D8S1179: 13

FGA: 20,22

D6S1043: 11

D2S1338: 18

D12S391: 21,22

D19S433: 15,15.2