

Komórki KMH-2 | 305142**Informacje ogólne****Description**

KMH-2 to ludzka linia komórkowa anaplastycznego raka tarczycy (ATC) pochodząca od mężczyzny z szybko postępującą i śmiertelną postacią raka tarczycy. Anaplastyczny rak tarczycy jest jednym z najbardziej agresywnych i śmiertelnych nowotworów złośliwych tarczycy, charakteryzującym się szybkim wzrostem i opornością na konwencjonalne terapie. Komórki KMH-2 zostały uzyskane z biopsji guza pierwotnego, zanim pacjent został poddany chemioterapii lub radioterapii. Komórki te są bardzo przydatne do badania patofizjologii ATC, a także do testowania skuteczności nowych środków terapeutycznych.

Linia komórkowa KMH-2 wykazuje wrzecionowatą morfologię podczas hodowli in vitro, co jest typowe dla wielu komórek anaplastycznego raka tarczycy. Komórki te wykazują oporność na wiele środków chemioterapeutycznych, w tym cisplatynę, doksorubicynę, etopozyd i pefleomycynę, co odzwierciedla wyzwanie kliniczne związane z leczeniem ATC. Chemooporność w komórkach KMH-2 została przypisana ekspresji mRNA białka związanego z opornością wielolekową (MRP), chociaż nie wykazują one ekspresji mRNA mdr-1 i mdr-3 związanych z glikoproteiną P, co sugeruje, że ich mechanizm oporności na leki jest niezależny od glikoproteiny P. Ta oporność na chemioterapię sprawia, że KMH-2 jest cennym modelem do badania alternatywnych strategii leczenia.

Pod względem charakterystyki wzrostu, komórki KMH-2 mają stosunkowo długi czas podwojenia, a ich nowotworowość została potwierdzona w modelach ksenotransplantacji z wykorzystaniem atymicznych myszy nagich. Komórki te wymagały jednak specyficznych warunków w celu zwiększenia proliferacji in vivo, takich jak użycie małej plastikowej płytki w celu utatwienia wzrostu po inokulacji. Analiza chromosomalna KMH-2 ujawniła liczne nieprawidłowości, powszechną cechą agresywnych nowotworów, co dodatkowo podkreśla ich przydatność w badaniu genetycznych podstaw anaplastycznego raka tarczycy.

Organism	Człowiek
Tissue	Tarczycza
Disease	Rak anaplastyczny gruczołu tarczowego
Metastatic site	Wysięk opłucnowy
Synonyms	KMHDASH2, KMH2

Charakterystyka

Age	71 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Azjatycki
Morphology	Komórki w kształcie wrzeciona z komórkami olbrzymimi

Komórki KMH-2 | 305142

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

Dane regulacyjne

Citation	KMH-2 (numer katalogowy Cytion 305142)
-----------------	--

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

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

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

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

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

Doubling time	58 godzin
----------------------	-----------

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

Split ratio	1:2 do 1:5
--------------------	------------

Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki KMH-2 | 305142

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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