

Células KMH-2 | 305142**Informações gerais****Description**

KMH-2 é uma linha celular de carcinoma anaplásico da tireoide (ATC) humano derivada de um doente do sexo masculino com uma forma de cancro da tireoide fatal e de rápida progressão. O carcinoma anaplásico da tireoide é um dos tumores malignos mais agressivos e letais da tireoide, caracterizado pelo seu rápido crescimento e resistência às terapias convencionais. As células KMH-2 foram estabelecidas a partir de uma biópsia do tumor primário antes de o doente ter sido submetido a qualquer quimioterapia ou radioterapia. Estas células são muito importantes para o estudo da fisiopatologia do CTA, bem como para testar a eficácia de novos agentes terapêuticos.

A linha celular KMH-2 apresenta uma morfologia fusiforme quando cultivada in vitro, o que é típico de muitas células do carcinoma anaplásico da tireoide. Estas células demonstraram resistência a múltiplos agentes quimioterapêuticos, incluindo cisplatina, doxorrubicina, etoposido e pepleomicina, o que reflecte o desafio clínico do tratamento do CTA. A quimiorresistência das células KMH-2 foi atribuída à expressão do ARNm da proteína associada à resistência a múltiplos fármacos (MRP), embora não expressem os ARNm *mdr-1* e *mdr-3* associados à glicoproteína-P, o que sugere que o seu mecanismo de resistência aos fármacos é independente da glicoproteína-P. Esta resistência à quimioterapia faz do KMH-2 um modelo valioso para a investigação de estratégias de tratamento alternativas.

Em termos de características de crescimento, as células KMH-2 têm tempos de duplicação relativamente longos e a sua tumorigenicidade foi confirmada em modelos de xenotransplantação utilizando ratinhos nus atímicos. No entanto, estas células necessitaram de condições específicas para aumentar a proliferação in vivo, como a utilização de uma pequena placa de plástico para facilitar o crescimento pós-inoculação. A análise cromossómica das KMH-2 revelou múltiplas anomalias, uma característica comum em cancros agressivos, o que reforça ainda mais a sua utilidade no estudo dos fundamentos genéticos do carcinoma anaplásico da tireoide.

Organism Humano**Tissue** Tireoide**Disease** Carcinoma anaplásico da glândula tireoide**Metastatic site** Derrame pleural**Synonyms** KMHDASH2, KMH2**Caraterísticas****Age** 71 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Asiático

Células KMH-2 | 305142**Morphology** Células fusiformes com células gigantes**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** KMH-2 (número de catálogo Cytion 305142)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_S641**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 58 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:5**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

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

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células KMH-2 | 305142**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil 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: 9,1
D8S1179: 13
FGA: 20,22
D6S1043: 11
D2S1338: 18
D12S391: 21,22
D19S433: 15,15.2