

Celice KMH-2 | 305142

Splošne informacije

Description

KMH-2 je celična linija človeškega anaplastičnega karcinoma ščitnice (ATC), pridobljena od moškega bolnika s hitro napredujočo in smrtno nevarno obliko raka ščitnice. Anaplastični karcinom ščitnice je eden najbolj agresivnih in smrtonosnih malignomov ščitnice, za katerega sta značilna hitra rast in odpornost na konvencionalno zdravljenje. Celice KMH-2 so bile pridobljene iz biopsije primarnega tumorja, preden je bolnik opravil kakršno koli kemoterapijo ali radioterapijo. Te celice so zelo pomembne za preučevanje patofiziologije ATC in preizkušanje učinkovitosti novih terapevtskih sredstev.

Celična linija KMH-2 ima pri gojenju in vitro morfologijo v obliki vretena, ki je značilna za številne celice anaplastičnega karcinoma ščitnice. Te celice so odporne na številna kemoterapevtska sredstva, vključno s cisplatinom, doksorubicinom, etopozidom in pepleomicinom, kar odraža klinični izziv zdravljenja ATC. Kemorezistenco celic KMH-2 pripisujejo izražanju mRNA proteina, povezanega z odpornostjo proti več zdravilom (MRP), čeprav ne izražajo mRNA mdr-1 in mdr-3, povezanih s P-glikoproteinom, kar nakazuje, da je njihov mehanizem odpornosti proti zdravilom neodvisen od P-glikoproteina. Zaradi te odpornosti na kemoterapijo je KMH-2 dragocen model za preučevanje alternativnih strategij zdravljenja.

Kar zadeva značilnosti rasti, imajo celice KMH-2 razmeroma dolg podvojitveni čas, njihova tumorogenost pa je bila potrjena v ksenotransplantacijskih modelih z uporabo athimskih golih miši. Vendar pa so te celice potrebovale posebne pogoje za povečanje razmnoževanja in vivo, kot je uporaba majhne plastične ploščice za lažjo rast po inokulaciji. Kromosomska analiza KMH-2 je razkrila številne nepravilnosti, kar je pogosta značilnost agresivnih rakov, kar še dodatno poudarja njihovo uporabnost pri preučevanju genetskih osnov anaplastičnega karcinoma ščitnice.

Organism	Človek
Tissue	Ščitnica
Disease	Anaplastični karcinom ščitnice
Metastatic site	Plevralni izliv
Synonyms	KMHDASH2, KMH2

Značilnosti

Age	71 let
Gender	Moški
Ethnicity	Azijski
Morphology	Vretenaste celice z orjaškimi celicami

Celice KMH-2 | 305142

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation KMH-2 (kataloška številka Cytion 305142)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_S641

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 58 ur

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice KMH-2 | 305142

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice KMH-2 | 305142

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.