

Клетки КНМ-5М | 305148

Обща информация

Description

Клетъчната линия КНМ-5М е важен модел, получен от пациент с недиференциран карцином на щитовидната жлеза, усложнен с неутрофилия и малигнен плеврит. Тази клетъчна линия се характеризира със значително производство на неутрофилни хемотактични фактори, по-специално човешки интерлевкин 8 (IL-8) и гранулоцит-макрофажен колонистимулиращ фактор (GM-CSF). Тези фактори са от решаващо значение за набирането и активирането на неутрофилите, които играят ключова роля в имунния отговор и възпалението. Доказано е, че клетките КНМ-5М притежават изключителна хемотактична активност - характеристика, която е потвърдена чрез *in vitro* експерименти, използващи кондиционирана среда от клетките и модифицирана техника на камерата на Бойдън.

Освен това клетките КНМ-5М са трансплантирани на голи плъхове, при което е наблюдавана инфилтрация на неутрофили в и около трансплантираната туморна тъкан. Това откритие подчертава значението на КНМ-5М като модел за изследване на взаимодействието между туморните клетки и имунната микросреда, особено по отношение на набирането и функцията на неутрофилите. Клетъчната линия служи и като ценен инструмент за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на производството на цитокини при рака и последващото модифициране на патологичните характеристики. Чрез техники за клониране на ДНК бяха потвърдени хемотактичните активности, приписвани на IL-8 и GM-CSF, което затвърди клетъчната линия КНМ-5М като значим ресурс за изследване на цитокинови взаимодействия между тумора и имунната система.

Organism

Човек

Tissue

Щитовидната жлеза

Disease

Анапластичен карцином на щитовидната жлеза

Metastatic site

Плеврален излив

Synonyms

КНМ/5М, КНМ5М

Характеристики

Age

65 години

Gender

Мъжки

Morphology

Фибробласти

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Клетки КНМ-5М | 305148

Citation	КНМ-5М (каталожен номер 305148 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2975

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	27 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки КНМ-5М | 305148

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки КНМ-5М | 305148

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.