

Buňky KHM-5M | 305148**Obecné informace****Description**

Buněčná linie KHM-5M je důležitým modelem odvozeným od pacienta s nediferencovaným karcinomem štítné žlázy komplikovaným neutrofilii a maligní pleuritidou. Tato buněčná linie se vyznačuje významnou produkcí chemotaktických faktorů neutrofilů, konkrétně lidského interleukinu 8 (IL-8) a faktoru stimulujícího kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF). Tyto faktory jsou klíčové pro nábor a aktivaci neutrofilů, které hrají klíčovou roli v imunitní odpovědi a zánětu. Bylo prokázáno, že buňky KHM-5M mají extrémní chemotaktickou aktivitu, což bylo doloženo pokusy in vitro s použitím kondicionovaného média z buněk a modifikované techniky Boydenovy komory.

Kromě toho byly buňky KHM-5M transplantovány nahým potkanům, u nichž byla pozorována infiltrace neutrofilů v transplantované nádorové tkáni a jejím okolí. Toto zjištění podtrhuje význam KHM-5M jako modelu pro studium interakcí mezi nádorovými buňkami a imunitním mikroprostředím, zejména ve vztahu k náboru a funkci neutrofilů. Tato buněčná linie také slouží jako cenný nástroj pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem produkce cytokinů u nádorových onemocnění a následné modifikace patologických znaků. Pomocí technik klonování DNA byla potvrzena chemotaktická aktivita přisuzovaná IL-8 a GM-CSF, což upevnilo postavení buněčné linie KHM-5M jako významného zdroje pro výzkum interakcí mezi nádorem a imunitním systémem, které jsou řízeny cytokiny.

Organism

Člověk

Tissue

Štítná žláza

Disease

Anaplastický karcinom štítné žlázy

Metastatic site

Pleurální výpotek

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Charakteristika**Age**

65 let

Gender

Muži

Morphology

Fibroblasty

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Buňky KHM-5M | 305148**Citation** KHM-5M (katalogové číslo Cytion 305148)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2975**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:5**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky KHM-5M | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KHM-5M | 305148

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,13
D13S317: 8,11
D16S539: 10
D5S818: 12
D7S820: 10,11
TH01: 7
TPOX: 8
vWA: 18
D3S1358: 15
D21S11: 28,31
D18S51: 16,19
Penta E: 11,18
Penta D: 9,11
D8S1179: 13
FGA: 22,23
D6S1043: 13,19
D2S1338: 19,23
D12S391: 18,21
D19S433: 14