

Κύτταρα KHM-5M | 305148

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά KHM-5M είναι ένα σημαντικό μοντέλο που προέρχεται από έναν ασθενή με αδιαφοροποίητο καρκίνωμα του θυρεοειδούς που επιπλέκεται από ουδετεροφιλία και κακοήθη πλευρίτιδα. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από τη σημαντική παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων των ουδετερόφιλων, συγκεκριμένα της ανθρώπινης ιντερλευκίνης 8 (IL-8) και του παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF). Αυτοί οι παράγοντες είναι ζωτικής σημασίας για την προσέλκυση και την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων, τα οποία διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανοσολογική απόκριση και τη φλεγμονή. Τα κύτταρα KHM-5M αποδείχθηκε ότι διαθέτουν ακραία χημειοτακτική δραστηριότητα, χαρακτηριστικό που τεκμηριώθηκε μέσω πειραμάτων *in vitro* με τη χρήση κλιματιζόμενου μέσου από τα κύτταρα και την τροποποιημένη τεχνική θαλάμου Boyden.

Επιπλέον, τα κύτταρα KHM-5M μεταμοσχεύθηκαν σε γυμνούς αρουραίους, όπου παρατηρήθηκε διήθηση ουδετερόφιλων μέσα και γύρω από τον μεταμοσχευμένο καρκινικό ιστό. Το εύρημα αυτό υπογραμμίζει τη σημασία του KHM-5M ως μοντέλου για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του ανοσοποιητικού μικροπεριβάλλοντος, ιδίως σε σχέση με τη στρατολόγηση και τη λειτουργία των ουδετερόφιλων. Η κυτταρική σειρά χρησιμεύει επίσης ως πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την παραγωγή κυτταροκινών στον καρκίνο και την επακόλουθη τροποποίηση των παθολογικών χαρακτηριστικών. Μέσω τεχνικών κλωνοποίησης DNA, επιβεβαιώθηκαν οι χημειοτακτικές δραστηριότητες που αποδίδονται στην IL-8 και στον GM-CSF, εδραιώνοντας την κυτταρική σειρά KHM-5M ως σημαντική πηγή για την έρευνα των αλληλεπιδράσεων όγκου-ανοσοποιητικού συστήματος που προκαλούνται από κυτταροκίνες.

Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Θυρεοειδής
Disease	Αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς αδένα
Metastatic site	Υπεζωκοτική συλλογή
Synonyms	KHM/5M, KHM5M

Χαρακτηριστικά

Age	65 χρόνια
Gender	Άντρας
Morphology	Ινοβλάστες
Growth properties	Προσκολλημένο

Κύτταρα KHM-5M | 305148

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	KHM-5M (αριθμός καταλόγου Cytion 305148)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2975

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	27 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα KHM-5M | 305148**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα KHM-5M | 305148

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.