

KHM-5M-solut | 305148

Yleisiä tietoja

Description

KHM-5M-solulinja on tärkeä malli, joka on peräisin potilaasta, jolla on erilaistumaton kilpirauhaskarsinoma, johon liittyy neutrofilia ja pahanlaatuinen keuhkopussintulehdus. Tälle solulinjalle on ominaista, että se tuottaa merkittävästi neutrofiilien kemotaktisia tekijöitä, erityisesti ihmisen interleukiini 8:a (IL-8) ja granulosyytti-makrofagikolonioita stimuloivaa tekijää (GM-CSF). Nämä tekijät ovat ratkaisevia neutrofiilien rekrytoinnissa ja aktivoinnissa, ja niillä on keskeinen rooli immuunivasteessa ja tulehduksessa. KHM-5M-soluilla osoitettiin olevan äärimmäinen kemotaktinen aktiivisuus, joka osoitettiin in vitro -kokeissa, joissa käytettiin solujen ehdollistettua mediaa ja muunnettua Boydenin kammiotekniikkaa.

Lisäksi KHM-5M-soluja siirrettiin alastomiin rottiin, joissa havaittiin neutrofiilien infiltraatiota siirrettyyn kasvainkudokseen ja sen ympärille. Tämä havainto korostaa KHM-5M:n merkitystä mallina kasvainsolujen ja immuunimikroympäristön vuorovaikutuksen tutkimisessa, erityisesti neutrofiilien rekrytoinnin ja toiminnan osalta. Solulinja toimii myös arvokkaana välineenä tutkittaessa molekyyli mekanismeja, jotka ovat syövän sytokiini tuotannon ja sitä seuraavan patologisten piirteiden muuttumisen taustalla. DNA-kloonaustekniikoiden avulla vahvistettiin IL-8:n ja GM-CSF:n kemotaktinen aktiivisuus, mikä vahvisti KHM-5M-solulinjan asemaa merkittävänä resurssina sytokiinien aiheuttamien kasvaimen ja immuunijärjestelmän vuorovaikutusten tutkimuksessa.

Organism

Ihminen

Tissue

Kilpirauhanen

Disease

Kilpirauhasen anaplastinen karsinoma

Metastatic site

Pleuraeffuusio

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Ominaisuudet

Age

65 vuotta

Gender

Mies

Morphology

Fibroblastit

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

KHM-5M-solut | 305148**Citation** KHM-5M (Cytionin luettelonumero 305148)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2975**Biomolekyylitiedot****Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 tuntia**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

KHM-5M-solut | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KHM-5M-solut | 305148

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.