

## Cellules KHM-5M | 305148

## Informations générales

## Description

La lignée cellulaire KHM-5M est un modèle important dérivé d'un patient atteint d'un carcinome thyroïdien indifférencié compliqué par une neutrophilie et une pleurésie maligne. Cette lignée cellulaire se caractérise par une production importante de facteurs chimiotactiques des neutrophiles, en particulier l'interleukine 8 humaine (IL-8) et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF). Ces facteurs sont essentiels au recrutement et à l'activation des neutrophiles, qui jouent un rôle central dans la réponse immunitaire et l'inflammation. Il a été démontré que les cellules KHM-5M possèdent une activité chimiotactique extrême, une caractéristique qui a été corroborée par des expériences in vitro utilisant le milieu conditionné des cellules et la technique de la chambre de Boyden modifiée.

En outre, des cellules KHM-5M ont été transplantées dans des rats nus, où l'infiltration de neutrophiles a été observée dans et autour du tissu tumoral transplanté. Cette découverte souligne la pertinence de KHM-5M en tant que modèle pour l'étude des interactions entre les cellules tumorales et le microenvironnement immunitaire, en particulier en ce qui concerne le recrutement et la fonction des neutrophiles. La lignée cellulaire est également un outil précieux pour étudier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la production de cytokines dans le cancer et la modification subséquente des caractéristiques pathologiques. Grâce à des techniques de clonage de l'ADN, les activités chimiotactiques attribuées à l'IL-8 et au GM-CSF ont été confirmées, consolidant la lignée cellulaire KHM-5M en tant que ressource importante pour la recherche sur les interactions tumeur-immunité induites par les cytokines.

<b>Organism</b>	Humain
<b>Tissue</b>	Thyroïde
<b>Disease</b>	Carcinome anaplasique de la glande thyroïde
<b>Metastatic site</b>	Épanchement pleural
<b>Synonyms</b>	KHM/5M, KHM5M

## Caractéristiques

<b>Age</b>	65 ans
<b>Gender</b>	Homme
<b>Morphology</b>	Fibroblaste
<b>Growth properties</b>	Adhérent

## Données réglementaires

## Cellules KHM-5M | 305148

**Citation** KHM-5M (numéro de catalogue Cytion 305148)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2975

## Données biomoléculaires

## Manipulation

**Culture Medium** RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numéro d'article Cytion 820700a)

**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 27 heures

**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Split ratio** 1:2 à 1:5

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

## Cellules KHM-5M | 305148

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

### Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

## Cellules KHM-5M | 305148

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

### 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