

KHM-5M ląstelės | 305148**Bendra informacija****Description**

KHM-5M ląstelių linija yra svarbus modelis, gautas iš paciento, sergančio nediferencijuota skydliaukės karcinoma, kuri komplikavosi neutrofilija ir piktybiniu pleuritu. Šiai ląstelių linijai būdinga didelė neutrofilų chemotaktinių veiksnių, ypač žmogaus interleukino 8 (IL-8) ir granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojančio veiksnio (GM-CSF), gamyba. Šie veiksniai yra labai svarbūs neutrofilų, atliekančių pagrindinį vaidmenį imuniniame atsako ir uždegimo procese, įdarbinimui ir aktyvinimui. Buvo įrodyta, kad KHM-5M ląstelės pasižymi ypatingu chemotaktiniu aktyvumu, o ši savybė buvo patvirtinta atliekant in vitro eksperimentus, kuriuose naudota sąlyginė ląstelių terpė ir modifikuotas Boydeno kameros metodas.

Be to, KHM-5M ląstelės buvo persodintos nuogoms žiurkėms, kur buvo pastebėta neutrofilų infiltracija persodinto naviko audinyje ir aplink jį. Šis atradimas pabrėžia KHM-5M kaip modelio svarbą tiriant naviko ląstelių ir imuninės mikroaplinkos sąveiką, ypač susijusią su neutrofilų įdarbinimu ir funkcijomis. Ši ląstelių linija taip pat yra vertingas įrankis tiriant molekulinis mechanizmus, lemiančius citokinų gamybą vėžyje ir vėlesnį pataloginių požymių modifikavimą. Naudojant DNR klonavimo metodus, buvo patvirtintas IL-8 ir GM-CSF priskiriamas chemotaktinis aktyvumas, todėl KHM-5M ląstelių linija tapo svarbiu šaltiniu tiriant citokinų sukeltą naviko ir imuninės sistemos sąveiką.

Organism Žmogus**Tissue** Skydliaukė**Disease** Skydliaukės anaplastinė karcinoma**Metastatic site** Pleuros išskyros**Synonyms** KHM/5M, KHM5M**Charakteristikos****Age** 65 metai**Gender** Vyras**Morphology** Fibroblastai**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** KHM-5M (Cytion katalogo numeris 305148)

KHM-5M ląstelės | 305148

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2975

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	27 valandos
----------------------	-------------

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

KHM-5M ląstelės | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

KHM-5M ląstelės | 305148

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.