

KHM-5M šūnas | 305148

Vispārīga informācija

Description

KHM-5M šūnu līnija ir svarīgs modelis, kas iegūts no pacienta ar nediferencētu vairogdziedzera karcinomu, kas komplikējās ar neitrofiliju un ļaundabīgu pleirītu. Šai šūnu līnijai ir raksturīga ievērojama neitrofilu hemotaktisko faktoru, īpaši cilvēka interleikīna 8 (IL-8) un granulocītu-makrofāgu koloniju stimulējošā faktora (GM-CSF), ražošana. Šiem faktoriem ir izšķiroša nozīme neitrofilu rekrutēšanā un aktivizēšanā, kam ir izšķiroša nozīme imūnās atbildes reakcijas un iekaisuma procesā. Tika pierādīts, ka KHM-5M šūnām piemīt ārkārtīgi liela hemotaktiskā aktivitāte, un šī īpašība tika pamatota in vitro eksperimentos, izmantojot šūnu kondicionēto barotni un modificēto Boidena kameras metodi.

Turklāt KHM-5M šūnas tika transplantētas kailām žurkām, kur tika novērota neitrofilu infiltrācija transplantētā audzēja audos un ap tiem. Šis atklājums uzsvē KHM-5M kā modeļa nozīmi audzēja šūnu un imūnās mikrovides mijiedarbības izpētei, jo īpaši saistībā ar neitrofilu rekrutēšanu un funkciju. Šūnu līnija kalpo arī kā vērtīgs instruments, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir pamatā citokīnu ražošanai vēža gadījumā un no tā izrietošajām patoloģisko pazīmju izmaiņām. Izmantojot DNS klonēšanas paņēmienus, tika apstiprināta IL-8 un GM-CSF piemītošā hemotaktiskā aktivitāte, tādējādi nostiprinot KHM-5M šūnu līniju kā nozīmīgu resursu pētījumiem par citokīnu izraisītu audzēja un imūnsistēmas mijiedarbību.

Organism

Cilvēks

Tissue

Vairogdziedzera

Disease

Vairogdziedzera anaplastiskā karcinoma

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Raksturojums

Age

65 gadi

Gender

Vīrieši

Morphology

Fibroblasti

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

KHM-5M (Cytion kataloga numurs 305148)

KHM-5M šūnas | 305148

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2975

Biomolekulārie dati**Darbs ar**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

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

Doubling time	27 stundas
----------------------	------------

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

KHM-5M šūnas | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KHM-5M šūnas | 305148

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.