

KHM-5M Cellen | 305148**Algemene informatie****Description**

De KHM-5M cellijn is een belangrijk model afkomstig van een patiënt met ongedifferentieerd schildkliercarcinoom gecompliceerd door neutrofilie en maligne pleuritis. Deze cellijn wordt gekenmerkt door een aanzienlijke productie van chemotactische factoren voor neutrofielen, met name humaan interleukine 8 (IL-8) en granulocyt-macropaagkoloniestimulerende factor (GM-CSF). Deze factoren zijn cruciaal in de rekrutering en activatie van neutrofielen, die een centrale rol spelen in de immuunrespons en ontstekingen. Er werd aangetoond dat de KHM-5M cellen een extreme chemotactische activiteit bezitten, een eigenschap die werd gestaafd door in vitro experimenten met geconditioneerde media van de cellen en de gemodificeerde Boyden-kamertechniek.

Bovendien werden KHM-5M cellen getransplanteerd in naakte ratten, waarbij infiltratie van neutrofielen werd waargenomen in en rond het getransplanteerde tumorweefsel. Deze bevinding onderstreept de relevantie van KHM-5M als model voor het bestuderen van de interacties tussen tumorcellen en het immuunmilieu, in het bijzonder met betrekking tot de rekrutering en functie van neutrofielen. De cellijn dient ook als waardevol instrument voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan cytokineproductie in kanker en de daaropvolgende verandering van pathologische kenmerken. Door middel van DNA-klonerings technieken werden de chemotactische activiteiten die worden toegeschreven aan IL-8 en GM-CSF bevestigd, waardoor de KHM-5M cellijn een belangrijke bron wordt voor onderzoek naar cytokine-gedreven tumor-immuun interacties.

Organism

Mens

Tissue

Schildklier

Disease

Schildklier anaplastisch carcinoom

Metastatic site

Pleurale effusie

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Kenmerken**Age**

65 jaar

Gender

Mannelijk

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

KHM-5M Cellen | 305148**Citation** KHM-5M (Cytion catalogusnummer 305148)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2975**Biomoleculaire gegevens****Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 uur**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** 1:2 tot 1:5**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

KHM-5M Cellen | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

KHM-5M Cellen | 305148

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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