

KHM-5M-celler | 305148

Generell informasjon

Description

KHM-5M-cellelinjen er en viktig modell avledet fra en pasient med udifferensiert thyreoideakarsinom komplisert av nøytrofili og malign pleuritt. Denne cellelinjen kjennetegnes av en betydelig produksjon av nøytrofile kjemotaktiske faktorer, spesielt humant interleukin 8 (IL-8) og granulocyt-makrofag kolonistimulerende faktor (GM-CSF). Disse faktorene er avgjørende for rekruttering og aktivering av nøytrofile celler, som spiller en sentral rolle i immunresponsen og inflammasjon. KHM-5M-cellelinjen viste seg å ha en ekstrem kjemotaktisk aktivitet, en egenskap som ble underbygget gjennom in vitro-eksperimenter ved bruk av kondisjonert media fra cellene og modifisert Boyden-kammertechnik.

I tillegg ble KHM-5M-celler transplantert inn i nakenrotter, der infiltrasjon av nøytrofile celler ble observert i og rundt det transplanterte tumorvevet. Dette funnet understreker relevansen av KHM-5M som modell for å studere samspillet mellom tumorceller og immunmikromiljøet, særlig i forhold til rekruttering og funksjon av nøytrofile. Cellelinjen er også et verdifullt verktøy for å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for cytokinproduksjon i kreft og den påfølgende modifiseringen av patologiske trekk. Ved hjelp av DNA-kloningsteknikker ble de kjemotaktiske aktivitetene som tilskrives IL-8 og GM-CSF bekreftet, noe som befester KHM-5M-cellelinjen som en viktig ressurs for forskning på cytokin-drevne interaksjoner mellom tumor og immunforsvar.

Organism

Menneskelig

Tissue

Skjoldbruskkjertelen

Disease

Anaplastisk karsinom i skjoldbruskkjertelen

Metastatic site

Pleuraeffusjon

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Kjennetegn

Age

65 år

Gender

Mann

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

KHM-5M-celler | 305148**Citation** KHM-5M (Cytion-katalognummer 305148)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2975**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 timer**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:2 til 1:5**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

KHM-5M-celler | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

KHM-5M-celler | 305148

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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