

**Komórki KHM-5M | 305148****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa KHM-5M jest ważnym modelem pochodzącym od pacjenta z niezróżnicowanym rakiem tarczycy powikłanym neutrofilią i złośliwym zapaleniem osłuzkowej. Ta linia komórkowa charakteryzuje się znaczną produkcją czynników chemotaktycznych neutrofilii, w szczególności ludzkiej interleukiny 8 (IL-8) i czynnika stymulującego kolonie granulocytów i makrofagów (GM-CSF). Czynniki te mają kluczowe znaczenie w rekrutacji i aktywacji neutrofilii, które odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej i stanach zapalnych. Wykazano, że komórki KHM-5M wykazują ekstremalną aktywność chemotaktyczną, co zostało potwierdzone w eksperymentach in vitro z wykorzystaniem kondycjonowanej pożywki z komórek i zmodyfikowanej techniki komory Boydena.

Dodatkowo, komórki KHM-5M zostały przeszczepione nagim szczurom, gdzie zaobserwowano infiltrację neutrofilii w i wokół przeszczepionej tkanki nowotworowej. Odkrycie to podkreśla znaczenie KHM-5M jako modelu do badania interakcji między komórkami nowotworowymi a mikrośrodowiskiem immunologicznym, szczególnie w odniesieniu do rekrutacji i funkcji neutrofilii. Linia komórkowa służy również jako cenne narzędzie do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw produkcji cytokin w nowotworach i późniejszej modyfikacji cech patologicznych. Za pomocą technik klonowania DNA potwierdzono aktywność chemotaktyczną przypisywaną IL-8 i GM-CSF, umacniając linię komórkową KHM-5M jako istotne źródło badań nad interakcjami nowotwór-immunologia wywołanymi przez cytokiny.

**Organism** Człowiek**Tissue** Tarczyca**Disease** Rak anaplastyczny gruczołu tarczowego**Metastatic site** Wysiłek osłuzkowy**Synonyms** KHM/5M, KHM5M**Charakterystyka****Age** 65 lat**Gender** Mężczyzna**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

**Komórki KHM-5M | 305148****Citation** KHM-5M (numer katalogowy Cytion 305148)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2975**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 godzin**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:5**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki KHM-5M | 305148****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki KHM-5M | 305148****Shipping  
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**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