

**Células KHM-5M | 305148****Informações gerais****Description**

A linha celular KHM-5M é um modelo importante derivado de um doente com carcinoma indiferenciado da tiroide complicado por neutrofilia e pleurisia maligna. Esta linha celular é caracterizada pela sua produção significativa de factores quimiotácticos de neutrófilos, especificamente a interleucina 8 humana (IL-8) e o fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). Estes factores são cruciais para o recrutamento e a ativação de neutrófilos, que desempenham um papel fundamental na resposta imunitária e na inflamação. As células KHM-5M demonstraram possuir uma atividade quimiotáctica extrema, uma característica que foi comprovada através de experiências in vitro utilizando meios condicionados das células e a técnica de câmara de Boyden modificada.

Além disso, as células KHM-5M foram transplantadas para ratos nus, onde se observou a infiltração de neutrófilos dentro e à volta do tecido tumoral transplantado. Esta descoberta sublinha a relevância da KHM-5M como modelo para o estudo das interações entre as células tumorais e o microambiente imunitário, particularmente em relação ao recrutamento e à função dos neutrófilos. A linha celular também serve como uma ferramenta valiosa para investigar os mecanismos moleculares subjacentes à produção de citocinas no cancro e a subsequente modificação das características patológicas. Através de técnicas de clonagem de ADN, as actividades quimiotácticas atribuídas à IL-8 e ao GM-CSF foram confirmadas, solidificando a linha celular KHM-5M como um recurso importante para a investigação das interações tumor-imune induzidas por citocinas.

**Organism** Humano**Tissue** Tiroide**Disease** Carcinoma anaplásico da glândula tiroide**Metastatic site** Derrame pleural**Synonyms** KHM/5M, KHM5M**Caraterísticas****Age** 65 anos**Gender** Masculino**Morphology** Fibroblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

**Células KHM-5M | 305148****Citation** KHM-5M (número de catálogo Cytion 305148)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2975**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:5**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células KHM-5M | 305148

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células KHM-5M | 305148

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

### Perfil 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