

Bunky KHM-5M | 305148**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia KHM-5M je dôležitým modelom získaným od pacienta s nediferencovaným karcinómom štítnej žľazy komplikovaným neutrofiliou a malígnou pleuritídou. Táto bunková línia sa vyznačuje výraznou produkciou chemotaktických faktorov neutrofilov, konkrétne ľudského interleukínu 8 (IL-8) a faktora stimulujúceho kolónie granulocytov a makrofágov (GM-CSF). Tieto faktory sú kľúčové pri nábore a aktivácii neutrofilov, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v imunitnej odpovedi a zápale. Bolo preukázané, že bunky KHM-5M majú extrémnu chemotaktickú aktivitu, čo sa potvrdilo prostredníctvom experimentov in vitro s použitím kondicionovaného média z buniek a modifikovanej techniky Boydenovej komory.

Okrem toho boli bunky KHM-5M transplantované do nahých potkanov, kde sa pozorovala infiltrácia neutrofilov v transplantovanom nádorovom tkanive a jeho okolí. Toto zistenie zdôrazňuje význam KHM-5M ako modelu na štúdium interakcií medzi nádorovými bunkami a imunitným mikroprostredím, najmä vo vzťahu k nábore a funkcii neutrofilov. Táto bunková línia slúži aj ako cenný nástroj na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom produkcie cytokínov v rakovine a následnej modifikácie patologických vlastností. Pomocou techník klonovania DNA sa potvrdili chemotaktické aktivity pripisované IL-8 a GM-CSF, čo upevnilo bunkovú líniu KHM-5M ako významný zdroj pre výskum interakcií medzi nádorom a imunitným systémom, ktoré sú spôsobené cytokínmi.

Organism

Ľudské

Tissue

Štítna žľaza

Disease

Anaplastický karcinóm štítnej žľazy

Metastatic site

Pleurálny výpotok

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Charakteristika**Age**

65 rokov

Gender

Muži

Morphology

Fibroblasty

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky KHM-5M | 305148**Citation** KHM-5M (katalógové číslo Cytion 305148)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2975**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky KHM-5M | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky KHM-5M | 305148

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.