

**KHM-5M celice | 305148****Splošne informacije****Description**

Celična linija KHM-5M je pomemben model, pridobljen od bolnika z nediferenciranim karcinomom ščitnice, ki se je zapletel z nevtrofilijo in malignim plevritisom. Za to celično linijo je značilna velika proizvodnja kemotaktičnih dejavnikov nevtrofilcev, zlasti človeškega interlevkina 8 (IL-8) in dejavnika, ki stimulira kolonije granulocitov in makrofagov (GM-CSF). Ti dejavniki so ključnega pomena pri rekrutiranju in aktivaciji nevtrofilcev, ki imajo ključno vlogo pri imunskem odzivu in vnetju. Pokazalo se je, da imajo celice KHM-5M izjemno kemotaktično aktivnost, kar je bilo dokazano s poskusi in vitro z uporabo kondicioniranega medija iz celic in spremenjeno tehniko Boydenove komore.

Poleg tega so bile celice KHM-5M presajene v gole podgane, kjer so opazili infiltracijo nevtrofilcev v presajenem tumorskem tkivu in okoli njega. Ta ugotovitev poudarja pomen KHM-5M kot modela za preučevanje interakcij med tumorskimi celicami in imunskim mikrokoljem, zlasti v zvezi z rekrutiranjem in delovanjem nevtrofilcev. Celična linija služi tudi kot dragoceno orodje za raziskovanje molekularnih mehanizmov, ki so podlaga za proizvodnjo citokinov pri raku in posledično spreminjanje patoloških značilnosti. S tehnikami kloniranja DNK so bile potrjene kemotaktične aktivnosti, ki jih pripisujemo IL-8 in GM-CSF, kar je celično linijo KHM-5M utrdilo kot pomemben vir za raziskave interakcij med tumorjem in imunskim sistemom, ki jih povzročajo citokini.

**Organism**

Človek

**Tissue**

Ščitnica

**Disease**

Anaplastični karcinom ščitnice

**Metastatic site**

Plevralni izliv

**Synonyms**

KHM/5M, KHM5M

**Značilnosti****Age**

65 let

**Gender**

Moški

**Morphology**

Fibroblast

**Growth properties**

Pripadajoče

**Regulativni podatki****Citation**

KHM-5M (katalogška številka Cytion 305148)

**KHM-5M celice | 305148****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2975**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## KHM-5M celice | 305148

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**KHM-5M celice | 305148**

**Storage  
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

**Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA**

**Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.