

## Buňky LMH | 601411

## Obecné informace

## Description

LMH buňky, odvozené z leghornského samčího hepatomu, jsou univerzální buněčnou linií hojně využívanou v biologickém výzkumu. Tomoyuki Kitagawa je založil v roce 1981 v Ústavu pro výzkum rakoviny v japonském Tokiu. Tyto buňky mají epitelální fenotyp a jsou zvláště užitečné pro studium interakcí mezi hostitelem a patogenem v gastrointestinálním traktu drůbeže.

LMH buňky jsou adherentní a vykazují morfologii podobnou dendritům. Exprimují glukózo-6-fosfatázu a slabou aktivitu kanálové ATPázy. Díky triploidnímu karyotypu a šesti markerovým chromozomům vykazují tyto buňky odlišné genetické vlastnosti.

Bylo prokázáno, že buňky LMH účinně podporují syntézu DNA viru kachní hepatitidy B (DHBV), když jsou transfekovány virovými konstrukty. To z nich činí neocenitelný nástroj pro virologický výzkum, zejména v souvislosti s virovými infekcemi drůbeže.

Odvození buněk LMH zahrnovalo vyvolání nádorových uzlíků v játrech kuřat plemene Leghorn dlouhodobým působením dietylnitrosaminu. Tyto buňky byly rovněž chemicky transformovány, což umožnilo jejich imortalizaci a kontinuální množení v kultuře.

Pokud jde o nádorovou aktivitu, buňky LMH mají schopnost vytvářet nádory u athymických nahých myší. Tato vlastnost z nich činí důležitý model pro studium hepatocelulárního karcinomu. LMH buňky exprimují estrogenový receptor a lze u nich vyvolat expresi genu pro jaterní apolipoprotein II (apoII). To naznačuje jejich zapojení do estrogenových signálních drah a metabolismu lipidů. Pro kultivaci buněk LMH je nutné předem pokrýt nádoby pro tkáňové kultury kolagenem. Tím se zajistí správná adheze a růst buněk.

**Organism** Kuře

**Tissue** Játra

**Disease** Hepatocelulární karcinom

**Applications** Tato buněčná linie je vhodná pro transfekční studie.

**Synonyms** Buněčná linie Leghorn Male Hepatoma

## Charakteristika

**Breed/Subspecies** Leghorn

**Age** 16 měsíců

**Gender** Muži

**Morphology** Epiteloidní, dendritické.

**Buňky LMH | 601411****Growth properties**

Adherentní. Může trvat několik dní, než buňky vyrostou do plně adherentních kolonií.

**Regulační údaje****Citation**

LMH (katalogové číslo Cytion 601411)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

9031

**CellosaurusAccession**

CVCL\_2580

**Biomolekulární data****Receptors expressed**

Estrogen (nízká hladina exprese).

**Tumorigenic**

LMH buňky tvoří nádory u athymických myší.

**Products**

Glukóza-6-fosfatáza, aktivita kanálové ATPázy (slabá)

**Karyotype**

Triploid, modální číslo = 116, šest markerových chromozomů

**Zpracování****Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Buňky LMH se lépe přichytí k nádobám tkáňových kultur, které byly předem potaženy kolagenem. Odstraňte médium a opláchněte adherované buňky pomocí PBS bez vápníku a hořčíku (3-5 ml PBS pro baňky T25, 5-10 ml pro baňky T75). Přidejte Accutase (1-2 ml na T25, 2,5 ml na baňku s buněčnou kulturou T75), buněčný list musí být zcela pokryt. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut. Opatrně resuspendujte buňky s médiem (10 ml), odstředujte 3 minuty při 300 g, resuspendujte buňky v čerstvém médiu a rozdělte je do nových baněk, které obsahují čerstvé médium

**Split ratio**

Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4

**Buňky LMH | 601411****Seeding density** 1 až 3 x 10<sup>4</sup> buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Každé 2 dny**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný

## Buňky LMH | 601411

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x