

Κύτταρα LMH | 601411

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα LMH, που προέρχονται από ένα αρσενικό ηπάτωμα Leghorn, είναι μια ευέλικτη κυτταρική σειρά που χρησιμοποιείται ευρέως στη βιολογική έρευνα. Ο Τομογυκι Kitagawa τα δημιούργησε το 1981 στο Ινστιτούτο Καρκίνου στο Τόκιο της Ιαπωνίας. Τα κύτταρα αυτά έχουν επιθηλιακό φαινότυπο και είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-παθογόνου στο γαστρεντερικό σύστημα των πουλερικών.

Τα κύτταρα LMH είναι προσκολλημένα και παρουσιάζουν μορφολογία που μοιάζει με δενδριτική. Εκφράζουν γλυκόζη-6-φωσφατάση και ασθενή δραστηριότητα καναλικής ΑΤΡάσης. Με τριπλοειδή καρυότυπο και έξι χρωμοσώματα-δείκτες, τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν διακριτά γενετικά χαρακτηριστικά.

Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι τα κύτταρα LMH υποστηρίζουν αποτελεσματικά τη σύνθεση του DNA του ιού της ηπατίτιδας Β της πάπιας (DHBV) όταν διαμολύνεται με ιικές κατασκευές. Αυτό τα καθιστά ένα ανεκτίμητο εργαλείο για την ιολογική έρευνα, ιδίως στο πλαίσιο των ιογενών λοιμώξεων που σχετίζονται με τα πουλερικά. Η παραγωγή των κυττάρων LMH περιλάμβανε την πρόκληση καρκινικών οζιδίων στο ήπαρ κοτόπουλων Leghorn μέσω μακροχρόνιας θεραπείας με διαιθυλνιτροζαμίνη. Τα κύτταρα αυτά μετασηματίστηκαν επίσης χημικά, επιτρέποντας την αθανασία τους και τον συνεχή πολλαπλασιασμό τους σε καλλιέργεια.

Όσον αφορά την καρκινικότητα, τα κύτταρα LMH έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν όγκους σε αθυμικά γυμνά ποντίκια. Το χαρακτηριστικό αυτό τα καθιστά σημαντικό μοντέλο για τη μελέτη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Τα κύτταρα LMH εκφράζουν τον υποδοχέα οιστρογόνων και μπορούν να επαχθούν για να εκφράσουν το ειδικό για το ήπαρ γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης II (apoII). Αυτό υποδηλώνει την εμπλοκή τους στα μονοπάτια σηματοδότησης των οιστρογόνων και στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Για την καλλιέργεια των κυττάρων LMH, είναι απαραίτητο να προεπικαλυφθούν τα αγγεία καλλιέργειας ιστού με κολλαγόνο. Αυτό εξασφαλίζει τη σωστή προσκόλληση και ανάπτυξη των κυττάρων.

Organism

Κοτόπουλο

Tissue

Ήπαρ

Disease

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

Applications

Η κυτταρική σειρά είναι χρήσιμη για μελέτες διαμόλυνσης.

Synonyms

Κυτταρική γραμμή ηπατώματος Leghorn Male

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

Leghorn

Age

16 μήνες

Gender

Άντρας

Κύτταρα LMH | 601411**Morphology** Επιθηλιακά, δενδριτικά.**Growth properties** Προσκολλημένος. Μπορεί να χρειαστούν μερικές ημέρες μέχρι τα κύτταρα να αναπτυχθούν σε πλήρως προσκολλημένες αποικίες.**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** LMH (αριθμός καταλόγου Cytion 601411)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9031**CellosaurusAccession** CVCL_2580**Βιομοριακά δεδομένα****Receptors expressed** Οιστρογόνα (χαμηλό επίπεδο έκφρασης).**Tumorigenic** Τα κύτταρα LMH σχηματίζουν όγκους σε αθυμικά ποντίκια.**Products** Γλυκόζη-6-φωσφατάση, δραστικότητα καναλικής ΑΤΡάσης (ασθενής)**Karyotype** Τριπλοειδής, modal number = 116, έξι χρωμοσώματα-δείκτες**Χειρισμός****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Κύτταρα LMH | 601411

Subculturing Τα κύτταρα LMH προσκολλώνται καλύτερα σε αγγεία ιστοκαλλιέργειας που έχουν επικαλυφθεί προηγουμένως με κολλαγόνο. Αφαιρέστε το μέσο και ξεπλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα χρησιμοποιώντας PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (3-5 ml PBS για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T25, 5-10 ml για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T75). Προσθέστε Accutase (1-2 ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T25, 2,5 ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T75), το φύλλο των κυττάρων πρέπει να καλυφθεί πλήρως. Επώαση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 8-10 λεπτά. Ανασυσσωματώστε προσεκτικά τα κύτταρα με μέσο (10 ml), φυγοκεντρήστε για 3 λεπτά στα 300 g, ανασυσσωματώστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και διανείμετε σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο

Seeding density 1 έως 3×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal Κάθε 2 ημέρες

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα LMH | 601411**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα LMH | 601411

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.