

LMH rakud | 601411

Üldine teave

Description

LMH rakud, mis on saadud Leghorni isashepatoomist, on bioloogilistes uuringutes laialdaselt kasutatav mitmekülgne rakuliin. Tomoyuki Kitagawa rajas need 1981. aastal Tokyos, Jaapanis asuvas vähiinstituudis. Need rakud on epiteliaalse fenotüübiga ja on eriti kasulikud peremehe ja patogeeni vaheliste interaktsioonide uurimiseks kodulindude seedetraktis.

LMH rakud on kleepuvad ja neil on dendriitide sarnane morfoloogia. Nad ekspresseerivad glükoos-6-fosfaasi ja nõrka kanalilise ATPaasi aktiivsust. Triploidse karüotüübiga ja kuue markerkromosoomiga on neil rakkudel erilised geneetilised omadused.

On näidatud, et LMH rakud toetavad tõhusalt B-hepatiidi viiruse (DHBV) DNA sünteesi, kui neid transfekteeritakse viiruskonstruktsioonidega. See muudab nad hindamatuks vahendiks viroloogiauuringutes, eriti kodulindude viirusnakkuste kontekstis.

LMH-rakkude saamiseks tekitati kanade maksas pikaajalise ravi abil dietüülnitrosamiiniga kasvaja sõlmede tekitamine. Neid rakke on ka keemiliselt muundatud, mis võimaldab nende immortaliseerimist ja pidevat paljundamist kultuuris.

LMH-rakkudel on võime moodustada tuumoreid atüümsetel alasti hiirtel. See omadus teeb neist olulise mudeli hepatotsellulaarse kartsinoomi uurimiseks. LMH rakud ekspresseerivad östrogeeni retseptorit ja neid saab indutseerida ekspresseerima maksaspetsiifilist apolipoproteiin II (apoII) geeni. See viitab nende osalusele östrogeeni signaaliradades ja lipiidide ainevahetuses. LMH-rakkude kasvatamiseks on vaja koekultuuri anumad eelnevalt katta kollageeniga. See tagab rakkude nõuetekohase adhesiivsuse ja kasvu.

Organism

Kana

Tissue

Maksa

Disease

Hepatotsellulaarne kartsinoom

Applications

Rakuliin on kasulik transfektsiooniuringuteks.

Synonyms

Leghorn Male Hepatoma rakuliin

Omadused

Breed/Subspecies

Leghorn

Age

16 kuud

Gender

Mees

Morphology

Epiteelilaadne, dendriitilaadne.

LMH rakud | 601411

Growth properties

Kinnipeetav. Võib kuluda paar päeva, kuni rakud kasvavad täielikult kleepuvateks kolooniadeks.

Regulatiivsed andmed

Citation LMH (Cytioni katalooginumber 601411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9031

CellosaurusAccession CVCL_2580

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Östrogeen (madal ekspressioon).

Tumorigenic LMH rakud moodustavad atüümsetel hiirtel kasvajaid.

Products Glükoos-6-fosfataas, kanalilise ATPaasi aktiivsus (nõrk)

Karyotype Triploidne, modaalne arv = 116, kuus markerkromosoomi

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAGA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing LMH rakud kinnituvad paremini kollageeniga eelnevalt kaetud koekultuuri anumatesse. Eemaldage keskkond ja loputage kinni jäänud rakud, kasutades PBS-i ilma kaltsiumi ja magneesiumita (3-5 ml PBS-i T25, 5-10 ml T75 rakukultuurikolbide puhul). Lisage Accutase (1-2 ml T25, 2,5 ml T75 rakukultuurikolbi kohta), rakukile peab olema täielikult kaetud. Inkubeerige ümbritseval temperatuuril 8-10 minutit. Resuspenseerige rakud ettevaatlikult söötmega (10 ml), tsentrifuugige 3 minutit 300 g juures, resuspenseerige rakud värskes söötmes ja doseerige uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötme

LMH rakud | 601411

Seeding density 1 kuni 3×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 2 päeva tagant

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

LMH rakud | 601411

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.