

## LMH ląstelės | 601411

## Bendra informacija

## Description

LMH ląstelės, gautos iš Leghorn patinų hepatomos, yra universali ląstelių linija, plačiai naudojama biologiniuose tyrimuose. Tomoyuki Kitagawa jas sukūrė 1981 m. Vėžio institute Tokijoje (Japonija). Šios ląstelės turi epitelio fenotipą ir yra ypač naudingos tiriant šeiminingo ir patogeno sąveiką naminių paukščių virškinimo trakte.

LMH ląstelės yra adherentiškos ir pasižymi dendrito tipo morfologija. Jos išreiškia gliukozės-6-fosfatazę ir silpną kanalines ATPazės aktyvumą. Šios ląstelės turi triploidinį kariotipą ir šešias žymėtąsias chromosomas, todėl joms būdingos išskirtinės genetinės savybės.

Įrodyta, kad LMH ląstelės veiksmingai palaiko ančių hepatito B viruso (DHBV) DNR sintezę, kai jos transfekuojamos virusiniais konstruktais. Dėl to šios ląstelės yra neįkainojama priemonė virusologiniams tyrimams, ypač susijusiems su naminių paukščių virusinėmis infekcijomis.

LMH ląstelės buvo išgautos, kai ilgalaikis gydymas dietilnitrozaminu Leghorn vištų kepenyse sukėlė vėžinius mazgelius. Šios ląstelės taip pat buvo chemiškai transformuotos, kad būtų galima jas nemoralizuoti ir nuolat dauginti kultūroje.

LMH ląstelės pasižymi gebėjimu formuoti navikus athiminėse nude pelėse. Dėl šios savybės jos yra svarbus modelis hepatocelulinei karcinomai tirti. LMH ląstelės išreiškia estrogenų receptorių ir gali būti skatinamos išreikšti kepenims būdingą apolipoproteino II (apoII) geną. Tai rodo, kad jos dalyvauja estrogenų signaliniuose keliuose ir lipidų apykaitoje. Norint kultivuoti LMH ląsteles, būtina iš anksto padengti audinių kultūrų indus kolagenu. Tai užtikrina tinkamą ląstelių sukibimą ir augimą.

## Organism

Vištiena

## Tissue

Kepenys

## Disease

Hepatocelulinė karcinoma

## Applications

Ši ląstelių linija naudinga transfekcijos tyrimams.

## Synonyms

Leghorn Male Hepatoma ląstelių linija

## Charakteristikos

## Breed/Subspecies

Leghorn

## Age

16 mėnesių

## Gender

Vyras

## Morphology

Panašus į epitelinį, panašus į dendritinį.

## LMH ląstelės | 601411

**Growth properties**

Priklausomas. Kol ląstelės išaugs į visiškai sulipusias kolonijas, gali praeiti kelios dienos.

**Reguliavimo duomenys**

**Citation** LMH (Cytion katalogo numeris 601411)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9031

**CellosaurusAccession** CVCL\_2580

**Biomolekuliniai duomenys**

**Receptors expressed** Estrogenas (maža raiška).

**Tumorigenic** LMH ląstelės formuoja navikus athiminėse pelėse.

**Products** Gliukozės-6-fosfatazė, kanalinės ATPazės aktyvumas (silpnas)

**Karyotype** Triploidas, modalinis skaičius = 116, šešios žyminčios chromosomos

**Tvarkymas**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** LMH ląstelės geriau prisitvirtina prie kolagenu iš anksto padengtų audinių kultūrų indų. Pašalinkite terpę ir nuplaukite prilipusias ląsteles, naudodami PBS be kalcio ir magnio (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 ląstelių kultūrų kolbose). Įpilkite "Accutase" (1-2 ml į T25, 2,5 ml į T75 ląstelių kultūrų kolbą), ląstelių lakštas turi būti visiškai padengtas. Inkubuokite aplinkos temperatūroje 8-10 minučių. Atsargiai permaišykite ląsteles su terpe (10 ml), 3 min. centrifuguokite 300 g greičiu, permaišykite ląsteles šviežioje terpėje ir išpilstykite į naujas kolbas, kuriose yra šviežia terpė

## LMH ląstelės | 601411

**Seeding density** 1–3 x 10<sup>4</sup> ląstelės/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Kas 2 dienas

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating** Nėra

## LMH ląstelės | 601411

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150$ - $196^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.