

LMH šūnas | 601411

Vispārīga informācija

Description

LMH šūnas, kas iegūtas no Leghorn vīriešu hepatomas, ir universāla šūnu līnija, ko plaši izmanto bioloģiskajos pētījumos. Tomoyuki Kitagawa tās izveidoja 1981. gadā Tokijas (Japāna) Vēža institūtā. Šīm šūnām ir epitēlija fenotips, un tās ir īpaši noderīgas māļputnu kuņģa un zarnu trakta saimnieka un patogēna mijiedarbības izpētei.

LMH šūnas ir adherētas un tām piemīt dendritiem līdzīga morfoloģija. Tās ekspresē glikozes-6-fosfatāzi un vāju kanālikulārās ATPāzes aktivitāti. Šīm šūnām ir triploīdais kariotips un sešas marķieru hromosomas, un tām piemīt atšķirīgas ģenētiskās īpašības.

Ir pierādīts, ka LMH šūnas efektīvi atbalsta kaķu hepatīta B vīrusa (DHBV) DNS sintēzi, kad tās ir transficētas ar vīrusu konstruktiem. Tas padara tās par nenovērtējamu instrumentu virusoloģijas pētījumos, jo īpaši saistībā ar māļputnu vīrusu infekcijām.

LMH šūnu iegūšanā izmantoja Leghorn cāļu aknu audzēju mezglu veidošanos, ilgstoši apstrādājot ar dietilnitrozamīnu. Šīs šūnas tika arī ķīmiski pārveidotas, kas ļāva tās imortalizēt un nepārtraukti pavairot kultūrā.

Kas attiecas uz audzēja aktivitāti, LMH šūnām ir spēja veidot audzējus atimiskās nude pelēs. Šī īpašība padara tās par svarīgu modeli hepatocelulārās karcinomas izpētei. LMH šūnas ekspresē estrogēnu receptoru, un tās var inducēt aknām specifiskā apolipoproteīna II (apoII) gēna ekspresiju. Tas norāda uz to iesaistīšanos estrogēnu signalizācijas ceļos un lipīdu metabolismā. Lai kultivētu LMH šūnas, audu kultūru trauki iepriekš jāpārklāj ar kolagēnu. Tas nodrošina pareizu šūnu saķeri un augšanu.

Organism Vistas

Tissue Aknas

Disease Hepatocelulārā karcinoma

Applications Šūnu līnija ir noderīga transfekcijas pētījumiem.

Synonyms Leghorn vīriešu hepatomas šūnu līnija

Raksturojums

Breed/Subspecies Leghorn

Age 16 mēneši

Gender Vīrieši

Morphology Epitēlijveida, dendrītveida.

LMH šūnas | 601411

Growth properties

Pielāgoties. Var paiet dažas dienas, līdz šūnas izaug pilnībā salīpušās kolonijās.

Normatīvie dati

Citation LMH (Cytion kataloga numurs 601411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9031

CellosaurusAccession CVCL_2580

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Estrogēns (zema līmeņa ekspresija).

Tumorigenic LMH šūnas veido audzējus atimiskām pelēm.

Products Glikoze-6-fosfatāze, kanālikulārās ATPāzes aktivitāte (vāja)

Karyotype Triploīds, modālais skaits = 116, sešas marķieru hromosomas

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing LMH šūnas labāk pievienojas audu kultūru traukiem, kas iepriekš pārklāti ar kolagēnu. Noņemt barotni un izskalot pielīpušās šūnas, izmantojot PBS bez kalcija un magnija (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 šūnu kultūru kolbām). Pievienojiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 šūnu kultūru kolbām), šūnu slānis ir pilnībā jānosedz. Inkubēt istabas temperatūrā 8-10 minūtes. Uzmanīgi resuspendēt šūnas ar barotni (10 ml), centrifugēt 3 minūtes ar 300 g, resuspendēt šūnas svaigā barotnē un iepildīt jaunās kolbās, kurās ir svaiga barotne

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²

LMH šūnas | 601411

Fluid renewal Ik pēc 2 dienām**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

LMH šūnas | 601411

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.