

Komórki LMH | 601411**Informacje ogólne****Description**

Komórki LMH, pochodzące z męskiego wątrobiaka Leghorn, są wszechstronną linią komórkową szeroko stosowaną w badaniach biologicznych. Tomoyuki Kitagawa stworzył je w 1981 roku w Instytucie Raka w Tokio w Japonii. Komórki te mają fenotyp nabłonkowy i są szczególnie przydatne do badania interakcji gospodarz-patogen w przewodzie pokarmowym drobiu.

Komórki LMH są przylegające i wykazują morfologię podobną do dendrytów. Wykazują ekspresję glukozy-6-fosfatazy i słabą aktywność ATPazy kanałowej. Z kariotypem triploidalnym i sześcioma chromosomami markerowymi, komórki te wykazują odrębne cechy genetyczne.

W szczególności wykazano, że komórki LMH skutecznie wspierają syntezę DNA kaczego wirusa zapalenia wątroby typu B (DHBV) po transfekcji konstruktami wirusowymi. Czyni to z nich nieocenione narzędzie do badań wirusologicznych, szczególnie w kontekście infekcji wirusowych związanych z drobiem.

Uzyskanie komórek LMH wiązało się z indukowaniem guzów nowotworowych w wątrobie kurcząt Leghorn poprzez długotrwałe leczenie dietylnitrozoaminą. Komórki te zostały również poddane transformacji chemicznej, co pozwoliło na ich unieśmiertelnienie i ciągłe namnażanie w hodowli.

Pod względem nowotworowości, komórki LMH mają zdolność do tworzenia guzów u atymicznych nagich myszy. Ta cecha czyni je ważnym modelem do badania raka wątrobowokomórkowego. Komórki LMH wykazują ekspresję receptora estrogenowego i mogą być indukowane do ekspresji specyficznego dla wątroby genu apolipoproteiny II (apolII). Wskazuje to na ich udział w szlakach sygnałowych estrogeny i metabolizmie lipidów. Aby hodować komórki LMH, konieczne jest wstępne pokrycie naczyń do hodowli tkankowej kolagenem. Zapewnia to właściwą adhezję i wzrost komórek.

Organism

Kurczak

Tissue

Wątroba

Disease

Rak wątrobowokomórkowy

Applications

Linia komórkowa jest przydatna do badań nad transfekcją.

Synonyms

Linia komórkowa Leghorn Male Hepatoma

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

Leghorn

Age

16 miesięcy

Gender

Męczyzna

Morphology

Nabłonkowe, Dendrytyczne.

Komórki LMH | 601411**Growth properties**

Przylegające. Może minąć kilka dni, zanim komórki rozwiną się w pełni przylegające kolonie.

Dane regulacyjne

Citation LMH (numer katalogowy Cytion 601411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9031

CellosaurusAccession CVCL_2580

Dane biomolekularne

Receptors expressed Estrogen (niski poziom ekspresji).

Tumorigenic Komórki LMH tworzą guzy u myszy atymicznych.

Products Glukoza-6-fosfataza, aktywność ATPazy kanalikowej (słaba)

Karyotype Triploid, liczba modalna = 116, sześć chromosomów markerowych

Obsługa

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Komórki LMH lepiej przylegają do naczyń do hodowli tkankowej, które zostały wstępnie pokryte kolagenem. Usunąć pożywkę i przepłukać przylegające komórki używając PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS na kolbę T25, 5-10 ml na kolbę T75). Dodać Accutase (1-2 ml na kolbę T25, 2,5 ml na kolbę T75), arkusz komórek musi być całkowicie przykryty. Inkubować w temperaturze otoczenia przez 8-10 minut. Ostrożnie ponownie zawiesić komórki w pożywce (10 ml), wirować przez 3 minuty z prędkością 300 g, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

Komórki LMH | 601411

Seeding density 1 do 3×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal Co 2 dni

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Komórki LMH | 601411

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x