

Células LMH | 601411

Informações gerais

Description

As células LMH, derivadas de um hepatoma de Leghorn macho, são uma linha celular versátil amplamente utilizada na investigação biológica. Tomoyuki Kitagawa criou-as em 1981 no Instituto do Cancro em Tóquio, Japão. Estas células têm um fenótipo epitelial e são particularmente úteis para estudar as interações entre o hospedeiro e o agente patogénico no trato gastrointestinal das aves de capoeira.

As células LMH são aderentes e apresentam uma morfologia de tipo dendrítico. Expressam glucose-6-fosfatase e uma fraca atividade de ATPase canalicular. Com um cariótipo triploide e seis cromossomas marcadores, estas células apresentam características genéticas distintas.

Nomeadamente, foi demonstrado que as células LMH suportam eficazmente a síntese de ADN do vírus da hepatite B do pato (DHBV) quando transfectadas com construções virais. Isto torna-as uma ferramenta inestimável para a investigação virológica, particularmente no contexto das infecções virais relacionadas com as aves de capoeira.

A derivação de células LMH envolveu a indução de nódulos tumorais no fígado de galinhas Leghorn através de um tratamento a longo prazo com dietilnitrosamina. Estas células foram também transformadas quimicamente, permitindo a sua imortalização e propagação contínua em cultura.

Em termos de tumorigenicidade, as células LMH têm a capacidade de formar tumores em ratinhos nus atímicos. Esta característica torna-as um modelo importante para o estudo do carcinoma hepatocelular. As células LMH expressam o recetor de estrogénio e podem ser induzidas a expressar o gene da apolipoproteína II (apoII) específico do fígado. Isto indica o seu envolvimento nas vias de sinalização dos estrogénios e no metabolismo lipídico. Para cultivar células LMH, é necessário revestir previamente os vasos de cultura de tecidos com colagénio. Isto assegura a adesão e o crescimento adequados das células.

Organism Galinha

Tissue Fígado

Disease Carcinoma hepatocelular

Applications A linha celular é útil para estudos de transfecção.

Synonyms Linha celular de hepatoma macho Leghorn

Caraterísticas

Breed/Subspecies Chifre de boi

Age 16 meses

Gender Masculino

Morphology De tipo epitelial, de tipo dendrítico.

Células LMH | 601411

Growth properties

Aderente. Pode demorar alguns dias até que as células cresçam em colónias totalmente aderentes.

Dados regulamentares

Citation LMH (número de catálogo Cytion 601411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9031

CellosaurusAccession CVCL_2580

Dados biomoleculares

Receptors expressed Estrogénio (expressão de baixo nível).

Tumorigenic As células LMH formam tumores em ratinhos atímicos.

Products Glucose-6-fosfatase, atividade ATPase canalicular (fraca)

Karyotype Triploide, número modal = 116, seis cromossomas marcadores

Manuseamento

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing As células LMH aderem melhor a recipientes de cultura de tecidos que tenham sido pré-revestidos com colagénio. Remover o meio e enxaguar as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (3-5 ml de PBS para T25, 5-10 ml para frascos de cultura de células T75). Adicionar Accutase (1-2 ml por T25, 2,5 ml por frasco de cultura de células T75), devendo a folha de células ser completamente coberta. Incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos. Ressuspender cuidadosamente as células com meio (10 ml), centrifugar durante 3 minutos a 300 g, ressuspender as células em meio fresco e distribuir em novos frascos que contenham meio fresco

Células LMH | 601411

Seeding density 1 a 3×10^4 células/cm²

Fluid renewal A cada 2 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

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

Células LMH | 601411

Flask Coating Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.