

Bunky LMH | 601411**Všeobecné informácie****Description**

Bunky LMH, odvodené od samčieho hepatómu Leghorn, sú univerzálnou bunkovou líniou, ktorá sa široko používa v biologickom výskume. Tomoyuki Kitagawa ich založil v roku 1981 na Inštitúte pre rakovinu v Tokiu v Japonsku. Tieto bunky majú epitelový fenotyp a sú obzvlášť užitočné na štúdium interakcií medzi hostiteľom a patogénom v gastrointestinálnom trakte hydiny.

Bunky LMH sú adherentné a vykazujú morfológiu podobnú dendritom. Vyjadrujú glukózo-6-fosfatázu a slabú aktivitu kanálovej ATPázy. Tieto bunky s triploidným karyotypom a šiestimi markerovými chromozómami vykazujú odlišné genetické charakteristiky.

Ukázalo sa, že bunky LMH účinne podporujú syntézu DNA vírusu kačacej hepatitídy B (DHBV) pri transfekcii vírusovými konštruktmi. To z nich robí neoceniteľný nástroj pre virologický výskum, najmä v súvislosti s vírusovými infekciami hydiny.

Odvodenie buniek LMH zahŕňalo indukciu nádorových uzlíkov v pečeni kurčiat plemena Leghorn prostredníctvom dlhodobého ošetrovania dietylnitrozamínom. Tieto bunky boli tiež chemicky transformované, čo umožnilo ich imortalizáciu a kontinuálne rozmnožovanie v kultúre.

Pokiaľ ide o nádorovú aktivitu, bunky LMH majú schopnosť vytvárať nádory v atýmových nahých myšiach. Táto vlastnosť z nich robí dôležitý model na štúdium hepatocelulárneho karcinómu. Bunky LMH exprimujú estrogénový receptor a môžu byť indukované na expresiu pečene špecifického génu apolipoproteínu II (apoII). To naznačuje ich zapojenie do estrogénových signálnych dráh a metabolizmu lipidov. Na kultiváciu buniek LMH je potrebné vopred pokryť nádoby na kultiváciu tkanív kolagénom. Tým sa zabezpečí správna adhézia a rast buniek.

Organism

Kuracie mäso

Tissue

Pečeň

Disease

Hepatocelulárny karcinóm

Applications

Bunková línia je užitočná na štúdie transfekcie.

Synonyms

Bunková línia Leghorn Male Hepatoma

Charakteristika**Breed/Subspecies**

Leghorn

Age

16 mesiacov

Gender

Muži

Morphology

Epitelové, dendritické.

Bunky LMH | 601411**Growth properties**

Adherentné. Môže trvať niekoľko dní, kým bunky narastú do úplne priľnutých kolónií.

Regulačné údaje

Citation LMH (katalógové číslo Cytion 601411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9031

CellosaurusAccession CVCL_2580

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed Estrogén (nízka expresia).

Tumorigenic Bunky LMH tvoria nádory u atýmových myší.

Products Glukóza-6-fosfatáza, kanálová ATPázová aktivita (slabá)

Karyotype Triploid, modálne číslo = 116, šesť markerových chromozómov

Spracovanie

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Bunky LMH sa lepšie prichytávajú na cievy tkanivových kultúr, ktoré boli vopred potiahnuté kolagénom. Odstráňte médium a opláchnite prichytené bunky pomocou PBS bez vápnika a horčička (3 - 5 ml PBS pre banky na kultiváciu buniek T25, 5 - 10 ml pre banky na kultiváciu buniek T75). Pridajte Accutase (1 - 2 ml na T25, 2,5 ml na banku s bunkovou kultúrou T75), bunkový list musí byť úplne pokrytý. Inkubujte pri teplote okolia 8-10 minút. Opatrne resuspendujte bunky s médiom (10 ml), odstredujte 3 minúty pri 300 g, resuspendujte bunky v čerstvom médiu a rozmiestnite do nových fliaš, ktoré obsahujú čerstvé médium

Bunky LMH | 601411

Seeding density 1 až 3 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal Každé 2 dni

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žiadne

Bunky LMH | 601411

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.