Product sheet

Tế bào LMH | 601411

Thông tin chung

Description	Tế bào LMH, được phân lập từ khối u gan của một con gà trống giống Leghorn, là một dòng tế bào đa năng được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu sinh học. Tomoyuki Kitagawa đã thiết lập dòng tế bào này vào năm 1981 tại Viện Ung thư Tokyo, Nhật Bản. Các tế bào này có biểu hiện biểu mô và đặc biệt hữu ích cho việc nghiên cứu tương tác giữa vật chủ và tác nhân gây bệnh trong đường tiêu hóa của gia cầm. Tế bào LMH là tế bào bám dính và có hình thái giống nhánh cây. Chúng biểu hiện glucose-6-phosphatase và hoạt động ATPase ống dẫn yếu. Với bộ nhiễm sắc thể tam bội và sáu nhiễm sắc thể dấu hiệu, các tế bào này có đặc điểm di truyền đặc trưng. Đáng chú ý, tế bào LMH đã được chứng minh là có khả năng hỗ trợ hiệu quả quá trình tổng hợp DNA của virus viêm gan B ở vịt (DHBV) khi được chuyển gen bằng các cấu trúc virus. Điều này khiến chúng trở thành công cụ vô giá cho nghiên cứu vi sinh học, đặc biệt trong bối cảnh các nhiễm trùng virus liên quan đến gia cầm. Quá trình tạo ra tế bào LMH bao gồm việc gây ra các khối u trong gan của gà Leghorn thông qua điều trị lâu dài bằng diethylnitrosamine. Các tế bào này cũng đã được biến đổi hóa học, cho phép chúng trở nên bất tử và nhân lên liên tục trong môi trường nuôi cấy. Về khả năng gây ung thư, tế bào LMH có khả năng hình thành khối u ở chuột nude không có tuyến ức. Đặc điểm này khiến chúng trở thành mô hình quan trọng để nghiên cứu ung thư gan tế bào. Tế bào LMH biểu hiện thụ thể estrogen và có thể được kích thích để biểu hiện gen apolipoprotein II (apoII) đặc hiệu cho gan. Điều này cho thấy sự tham gia của chúng vào các con đường tín hiệu estrogen và chuyển hóa lipid. Để nuôi cấy tế bào LMH, cần phủ trước các dụng cụ nuôi cấy mô bằng collagen. Điều này đảm bảo sự bám dính và phát triển đúng cách của tế bào.
Organism	Gà
Tissue	Gan
Disease	Ung thư tế bào gan
Applications	Dòng tế bào này hữu ích cho các nghiên cứu chuyển gen.
Synonyms	Dòng tế bào ung thư gan nam Leghorn

Đặc điểm

Breed/Subspecies	Leghorn
Age	16 tháng
Gender	Nam
Morphology	Tương tự biểu mô, tương tự nhánh thần kinh.

Tế bào LMH | 601411

Growth properties	Dính chặt. Có thể mất vài ngày cho đến khi các tế bào phát triển thành các cụm dính chặt hoàn toàn.

Dữ liệu quy định

Citation	LMH (Số catalog Cytion 601411)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9031
CellosaurusAccession	CVCL_2580

Dữ liệu sinh học phân tử

Receptors expressed	Estrogen (mức độ biểu hiện thấp).
Tumorigenic	Tế bào LMH hình thành khối u ở chuột không có tuyến ức.
Products	Glucose-6-phosphatase, hoạt động của ATPase ống dẫn (yếu)
Karyotype	Tam bội, số lượng nhiễm sắc thể trung bình = 116, sáu nhiễm sắc thể đánh dấu

Xử lý

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$, chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820100a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Tế bào LMH bám dính tốt hơn vào các bình nuôi cấy mô đã được phủ sẵn Collagen. Loại bỏ môi trường nuôi cấy và rửa các tế bào bám dính bằng PBS không chứa canxi và magiê (3-5 ml PBS cho bình T25, 5-10 ml cho bình T75). Thêm Accutase (1-2 ml cho mỗi bình T25, 2,5 ml cho mỗi bình T75), đảm bảo lớp tế bào được phủ hoàn toàn. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút. Cẩn thận tái phân tán tế bào bằng môi trường (10 ml), ly tâm trong 3 phút ở 300 g, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và phân phối vào các bình nuôi cấy mới chứa môi trường tươi

Tế bào LMH | 601411

Seeding density	1 đến 3 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	Mỗi 2 ngày
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.

2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.

3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.

4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.

5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.

6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.

7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.

8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Tế bào LMH | 601411

Freezing Procedure	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.