Product sheet

Клетки LM/TK(LMTK-) | 305176

Обща информация

Description	Клетъчната линия LM/TK- (LMTK-) е получена от миши фибробласти и се характеризира с липса на тимидинкиназна (TK) активност. Тази клетъчна линия е особено полезна в генетичните и молекулярно-биологичните изследвания, където служи като моделна система за изучаване на генната функция, репликацията на ДНК и рекомбинацията. Липсата на TK в тези клетки дава възможност за подбор на мутанти или рекомбинантни клетки, които са възстановили TK активността си, което ги прави ценни при изследвания, включващи мутанти с дефицит на TK, и за подбор на TK-позитивни клонове след трансфекция с екзогенна ДНК. Тази клетъчна линия, получена от подлиния на клетъчната линия миши фибробласти L-M, която е устойчива на BUdR, може да се използва за генетични и биохимични изследвания, като например трансфер на гени и хибридизация на соматични клетки. LM/TK-клетките обикновено се използват в изследвания, свързани с гена на тимидинкиназата на вируса на херпес симплекс (HSV), тъй като те осигуряват важен фон за селекция на трансформанти на HSV-TK гена. Това има значително значение за изследванията в областта на генната терапия, където HSV-TK се използва в стратегии за самоубийствена генна терапия за селективно унищожаване на ракови клетки. Освен това тези клетки се използват при производството на рекомбинантни вируси и при анализа на експресията и репликацията на вирусните гени. По този начин клетъчната линия LMTK- играе решаваща роля за напредъка на нашето разбиране за генетичните манипулации и разработването на терапевтични стратегии.
Organism	Мишка
Tissue	Подкожна съединителна тъкан, ареола на млечната жлеза и мазнини
Synonyms	L-M[TK-], LM TK negative, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L cells (TK-), L(TK-), L(tk-)

Характеристики

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 дни
Gender	Мъжки
Morphology	Подобни на фибробласти
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	LM/TK(LMTK-) (каталожен номер 305176 на Cytion)

Клетки LM/TK(LMTK-) | 305176

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4536

Биомолекулярни данни

Antigen expression	H-2k
Tumorigenic	Да, при голи мишки (тумори се развиват в рамките на 21 дни със 100 % честота (5/5) при голи мишки, инокулирани подкожно с 1×10^7 клетки).

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки LM/TK(LMTK-) | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки LM/TK(LMTK-) | 305176

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.