

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

СЗН/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, инокуирани 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.