

**Buňky LM/TK(LMTK-) | 305176****Obecné informace****Description**

Buněčná linie LM/TK- (LMTK-) je odvozena z myších fibroblastů a vyznačuje se absencí aktivity tymidinkinázy (TK). Tato buněčná linie je zvláště užitečná v genetickém a molekulárně biologickém výzkumu, kde slouží jako modelový systém pro studium funkce genů, replikace DNA a rekombinace. Nepřítomnost TK v těchto buňkách umožňuje výběr mutantů nebo rekombinantních buněk, které znovu získaly aktivitu TK, což je cenné pro studie zahrnující mutanty s deficitem TK a pro výběr klonů s pozitivní TK po transfekci exogenní DNA. Tato buněčná linie, odvozená z podlinie buněčné linie myších fibroblastů L-M, která je rezistentní vůči BUdR, se potenciálně používá pro genetické a biochemické studie, jako je přenos genů a hybridizace somatických buněk. LM/TK-buňky se běžně používají ve výzkumu zahrnujícím gen pro tymidinkinázu viru herpes simplex (HSV), protože poskytují klíčové pozadí pro výběr transformantů genu HSV-TK. To má významné důsledky ve výzkumu genové terapie, kde se HSV-TK používá ve strategiích sebevražedné genové terapie k selektivnímu zabíjení nádorových buněk. Dále se tyto buňky využívají při výrobě rekombinantních virů a při analýze exprese a replikace virových genů. Buněčná linie LMTK- tak hraje zásadní roli v rozvoji našeho chápání genetické manipulace a vývoji terapeutických strategií.

**Organism**

Myš

**Tissue**

Podkožní pojivová tkáň, prsní areola a tuk

**Synonyms**

L-M[TK-], LM TK negativní, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L buňky (TK-), L(TK-), L(tk-)

**Charakteristika****Breed/Subspecies**

C3H/An

**Age**

100 dní

**Gender**

Muži

**Morphology**

Fibroblastům podobné

**Growth properties**

Adherentní

**Regulační údaje****Citation**

LM/TK(LMTK-) (katalogové číslo Cytion 305176)

**Biosafety level**

1

**Buňky LM/TK(LMTK-) | 305176****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4536**Biomolekulární data****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Ano, u nahých myší (nádory se vyvinuly do 21 dnů se 100% četností (5/5) u nahých myší, kterým bylo podkožně naočkováno  $1 \times 10^7$  buněk).**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1: 3 až 1: 4**Fluid renewal** 2krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Buňky LM/TK(LMTK-) | 305176

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky LM/TK(LMTK-) | 305176

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.