

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Generel information

Description

LM/TK- (LMTK-) cellelinjen stammer fra murine fibroblaster og er karakteriseret ved at mangle thymidinkinase (TK)-aktivitet. Denne cellelinje er særlig nyttig inden for genetisk og molekylærbiologisk forskning, hvor den fungerer som et modelsystem til undersøgelse af genfunktion, DNA-replikation og rekombination. Fraværet af TK i disse celler gør det muligt at udvælge mutanter eller rekombinante celler, der har genvundet TK-aktivitet, hvilket gør dem værdifulde i undersøgelser, der involverer TK-defekte mutanter og til udvælgelse af TK-positive kloner efter transfektion med eksogent DNA. Denne cellelinje, der stammer fra en underlinje af L-M musefibroblastcellelinjen, som er resistent over for BUDR, kan potentielt bruges til genetiske og biokemiske undersøgelser såsom genoverførsel og somatisk cellehybridisering. LM/TK-celler anvendes ofte i forskning, der involverer herpes simplex-virus (HSV)-thymidinkinase-genet, da de udgør en afgørende baggrund for udvælgelsen af HSV-TK-gen-transformanter. Det har stor betydning for genterapiforskning, hvor HSV-TK bruges i selvmordsstrategier for genterapi til selektivt at dræbe kræftceller. Desuden bruges disse celler til produktion af rekombinante vira og til analyse af viralt genudtryk og replikation. LMTK-cellelinjen spiller således en afgørende rolle i at fremme vores forståelse af genetisk manipulation og udviklingen af terapeutiske strategier.

Organism

Mus

Tissue

Subkutan bindevæv, brystvorte og fedt

Synonyms

L-M[TK-], LM TK-negativ, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L-celler (TK-), L(TK-), L(tk-)

Karakteristika

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 dage

Gender

Mand

Morphology

Fibroblast-lignende

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

LM/TK(LMTK-) (Cytion katalognummer 305176)

Biosafety level

1

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekylære data

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Yees, hos nude-mus (tumorer udviklede sig inden for 21 dage med en frekvens på 100 % (5/5) hos nude-mus, der blev inokuleret subkutant med 1×10^7 celler).

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Fluid renewal 2 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.