

LM/TK(LMTK-) Zellen | 305176

Allgemeine Informationen

Description

Die LM/TK- (LMTK-) Zelllinie stammt von murinen Fibroblasten und zeichnet sich durch das Fehlen der Thymidinkinase (TK)-Aktivität aus. Diese Zelllinie ist besonders nützlich in der genetischen und molekularbiologischen Forschung, wo sie als Modellsystem für die Untersuchung von Genfunktionen, DNA-Replikation und Rekombination dient. Das Fehlen von TK in diesen Zellen ermöglicht die Auswahl von Mutanten oder rekombinanten Zellen, die wieder TK-Aktivität aufweisen, was sie für Studien mit TK-defizienten Mutanten und für die Auswahl von TK-positiven Klonen nach Transfektion mit exogener DNA wertvoll macht. Diese Zelllinie, die von einer Unterlinie der L-M-Mausfibroblasten-Zelllinie abgeleitet ist, die gegen BUdR resistent ist, kann für genetische und biochemische Studien wie Gentransfer und somatische Zellhybridisierung verwendet werden. LM/TK-Zellen werden häufig in der Forschung mit dem Thymidinkinase-Gen des Herpes simplex-Virus (HSV) eingesetzt, da sie einen entscheidenden Hintergrund für die Auswahl von HSV-TK-Gentransformanten bieten. Dies hat erhebliche Auswirkungen auf die Gentherapieforschung, wo HSV-TK in Selbstmord-Gentherapiestrategien zur selektiven Abtötung von Krebszellen eingesetzt wird. Außerdem werden diese Zellen bei der Herstellung rekombinanter Viren und bei der Analyse der viralen Genexpression und -replikation eingesetzt. Die LMTK-Zelllinie spielt somit eine entscheidende Rolle bei der Verbesserung unseres Verständnisses der genetischen Manipulation und der Entwicklung therapeutischer Strategien.

Organism

Maus

Tissue

Subkutanes Bindegewebe, Brustwarzenhof und Fett

Synonyms

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

Merkmale

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 Tage

Gender

Männlich

Morphology

Fibroblasten-ähnlich

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten

Citation

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

Biosafety level

1

LM/TK(LMTK-) Zellen | 305176

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekulare Daten

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Ja, bei Nacktmäusen (Tumore entwickelten sich innerhalb von 21 Tagen mit einer Häufigkeit von 100 % (5/5) bei Nacktmäusen, denen 1×10^7 Zellen subkutan injiziert wurden).

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio 1: 3 bis 1: 4

Fluid renewal 2 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

LM/TK(LMTK-) Zellen | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

LM/TK(LMTK-) Zellen | 305176

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.