

Κύτταρα LM/TK(LMTK-) | 305176

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά LM/TK- (LMTK-) προέρχεται από ινοβλάστες του ποντικού και χαρακτηρίζεται από έλλειψη δραστηριότητας κινάσης θυμιδίνης (TK). Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στη γενετική και μοριακή βιολογική έρευνα, όπου χρησιμεύει ως πρότυπο σύστημα για τη μελέτη της γονιδιακής λειτουργίας, της αντιγραφής του DNA και του ανασυνδυασμού. Η απουσία TK σε αυτά τα κύτταρα επιτρέπει την επιλογή μεταλλάξεων ή ανασυνδυασμένων κυττάρων που έχουν ανακτήσει τη δραστηριότητα TK, καθιστώντας τα πολύτιμα σε μελέτες που αφορούν μεταλλάξεις με ανεπάρκεια TK και για την επιλογή κλώνων θετικών στην TK μετά από διαμόλυνση με εξωγενές DNA. Αυτή η κυτταρική σειρά, που προέρχεται από μια υπο-γραμμή της κυτταρικής σειράς ινοβλαστών ποντικού L-M, η οποία είναι ανθεκτική στην BUdR, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί για γενετικές και βιοχημικές μελέτες, όπως η μεταφορά γονιδίων και ο υβριδισμός σωματικών κυττάρων. Τα κύτταρα LM/TK- χρησιμοποιούνται συνήθως σε έρευνες που αφορούν το γονίδιο της κινάσης της θυμιδίνης του ιού του απλού έρπητα (HSV), καθώς παρέχουν ένα κρίσιμο υπόβαθρο για την επιλογή μετασχηματιστών του γονιδίου HSV-TK. Αυτό έχει σημαντικές επιπτώσεις στην έρευνα γονιδιακής θεραπείας, όπου ο HSV-TK χρησιμοποιείται σε στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας για την επιλεκτική θανάτωση καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, τα κύτταρα αυτά χρησιμοποιούνται στην παραγωγή ανασυνδυασμένων ιών και στην ανάλυση της έκφρασης και του πολλαπλασιασμού των ιικών γονιδίων. Η κυτταρική σειρά LMTK- διαδραματίζει έτσι κρίσιμο ρόλο στην προώθηση της κατανόησης της γενετικής χειραγώγησης και της ανάπτυξης θεραπευτικών στρατηγικών.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Υποδόριος συνδετικός ιστός, μαστική θηλή και λίπος

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negative, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, LMTK-, L cells (TK-), L(TK-), L(tk-)

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 ημέρες

Gender

Άντρας

Morphology

Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation

LM/TK (LMTK-) (αριθμός καταλόγου Cytion 305176)

Κύτταρα LM/TK(LMTK-) | 305176

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια (οι όγκοι αναπτύχθηκαν εντός 21 ημερών με συχνότητα 100% (5/5) σε γυμνά ποντίκια που εμβολιάστηκαν υποδόρια με 1×10^7 κύτταρα).

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα LM/TK(LMTK-) | 305176**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα LM/TK(LMTK-) | 305176

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.