

LM/TK(LMTK-) rakud | 305176

Üldine teave

Description

LM/TK- (LMTK-) rakuliin on saadud hiirte fibroblastidest ja seda iseloomustab tümidiinkinaasi (TK) aktiivsuse puudumine. See rakuliin on eriti kasulik geneetilistes ja molekulaarbioloogilistes uuringutes, kus see on mudelisüsteemiks geenifunktsiooni, DNA replikatsiooni ja rekombinatsiooni uurimiseks. TK puudumine neis rakkudes võimaldab valida mutante või rekombinantseid rakke, mis on taastanud TK aktiivsuse, mis muudab need väärtuslikuks TK-puudulikke mutante hõlmavates uuringutes ja TK-positiivsete kloonide valimisel pärast transfektsiooni eksogeense DNAGA. Seda rakuliini, mis on saadud BUdR suhtes resistentse L-M hiire fibroblasti rakuliini alamliinist, on võimalik kasutada geneetilistes ja biokeemilistes uuringutes, nagu geenisiire ja somaatiliste rakkude hübriidimine. LM/TK-rakke kasutatakse tavaliselt herpes simplex'i viiruse (HSV) tümidiinkinaasi geeniga seotud uuringutes, kuna need pakuvad olulist tausta HSV-TK geenitransformantide valimiseks. Sellel on oluline mõju geeniteraapiauuringutes, kus HSV-TK-d kasutatakse suitsiidse geeniteraapia strateegiates vähirakkude selektiivseks tapmiseks. Lisaks kasutatakse neid rakke rekombinantsete viiruste tootmisel ning viiruse geeniekspressiooni ja replikatsiooni analüüsimisel. LMTK- rakuliinil on seega oluline roll meie arusaamade edendamisel geneetilisest manipulatsioonist ja ravistrateegiate väljatöötamisel.

Organism

Hiir

Tissue

Nahaalne sidekoe, rinnanahk ja rasvkude

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negatiivne, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, LMTK-, L rakud (TK-), L(TK-), L(tk-), L(tk-)

Omadused

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 päeva

Gender

Mees

Morphology

Fibroblastilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

LM/TK(LMTK-) (Cytioni katalooginumber 305176)

Biosafety level

1

LM/TK(LMTK-) rakud | 305176

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel (kasvajad tekkisid 21 päeva jooksul 100% sagedusega (5/5) alasti hiirtel, kellele süstiti naha alla 1×10^7 rakku).

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LM/TK(LMTK-) rakud | 305176

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LM/TK(LMTK-) rakud | 305176

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.