

LM/TK(LMTK-) solut | 305176

Yleisiä tietoja

Description

LM/TK- (LMTK-) solulinja on peräisin hiiren fibroblasteista, ja sille on ominaista tymidiinikinaasiaktiivisuuden (TK) puuttuminen. Tämä solulinja on erityisen hyödyllinen geneettisessä ja molekyylibiologisessa tutkimuksessa, jossa se toimii mallijärjestelmänä geenien toiminnan, DNA:n replikaation ja rekombinaation tutkimisessa. TK:n puuttuminen näistä soluista mahdollistaa sellaisten mutanttien tai rekombinanttisolujen valinnan, joissa TK-aktiivisuus on palautunut, mikä tekee niistä arvokkaita tutkimuksissa, joissa käytetään TK-puutteellisia mutantteja, ja TK-positiivisten kloonien valinnassa eksogeenisen DNA:n transfektion jälkeen. Tätä solulinjaa, joka on johdettu hiiren fibroblastisolulinjan L-M:n alalinjasta, joka on vastustuskykyinen BUDR:lle, voidaan mahdollisesti käyttää geneettisissä ja biokemiallisissa tutkimuksissa, kuten geeninsiirrossa ja somaattisten solujen hybridisoinnissa. LM/TK-soluja käytetään yleisesti herpes simplex -viruksen (HSV) tymidiinikinaasigeeniä käsittelevissä tutkimuksissa, koska ne tarjoavat ratkaisevan tärkeän taustan HSV-TK-geenin transformanttien valintaa varten. Tällä on merkittäviä vaikutuksia geeniterapiatutkimukseen, jossa HSV-TK:ta käytetään itsemurhageeniterapiastrategioissa syöpäsolujen valikoivaan tappamiseen. Lisäksi näitä soluja hyödynnetään rekombinantti-virusten tuotannossa sekä viruksen geeniekspression ja replikaation analysoinnissa. LMTK-solulinjalla on näin ollen ratkaiseva merkitys geneettisen manipulaation ymmärtämisessä ja terapeuttisten strategioiden kehittämisessä.

Organism

Hiiri

Tissue

Ihonalainen sidekudos, rintarauhanen ja rasva

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negatiivinen, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, LMTK-, L-solut (TK-), L(TK-), L(tk-), L(tk-)

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 päivää

Gender

Mies

Morphology

Fibroblastien kaltaiset

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

LM/TK(LMTK-) (Cytionin luettelonumero 305176)

LM/TK(LMTK-) solut | 305176

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4536**Biomolekyylitiedot****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä (kasvaimia kehittyi 21 päivän kuluessa 100 %:n tiheydellä (5/5) alastomilla hiirillä, joille oli annettu ihonalaisesti 1×10^7 solua).**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

LM/TK(LMTK-) solut | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LM/TK(LMTK-) solut | 305176

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.