

LM/TK(LMTK-) sejtek | 305176

Általános információk

Description

Az LM/TK- (LMTK-) sejt vonal egér fibroblasztokból származik, és a timidin-kináz (TK) aktivitás hiánya jellemzi. Ez a sejt vonal különösen hasznos a genetikai és molekuláris biológiai kutatásokban, ahol modellrendszerként szolgál a génműködés, a DNS-replikáció és a rekombináció tanulmányozásához. A TK hiánya ezekben a sejtekben lehetővé teszi olyan mutánsok vagy rekombináns sejtek kiválasztását, amelyek visszanyerték a TK-aktivitást, így értékesnek bizonyulnak a TK-hiányos mutánsokkal kapcsolatos vizsgálatokban, valamint az exogén DNS-sel történő transzfekciót követően TK-pozitív klónok kiválasztásában. Ez a sejt vonal, amely az L-M egér fibroblaszt sejt vonal egy BUdR-rezisztens alvonalából származik, potenciálisan használható genetikai és biokémiai vizsgálatokhoz, például géntranszferhez és szomatikus sejt hibridizációhoz. Az LM/TK- sejteket gyakran alkalmazzák a herpesz szimplex vírus (HSV) timidin-kináz génjével kapcsolatos kutatásokban, mivel döntő háttérrel biztosítanak a HSV-TK géntranszformánsok szelekciójához. Ennek jelentős következményei vannak a génterápiás kutatásokban, ahol a HSV-TK-t öngyilkos génterápiás stratégiákban használják a rákos sejtek szelektív elpusztítására. Továbbá ezeket a sejteket rekombináns vírusok előállításában, valamint a vírusgének expressziójának és replikációjának elemzésében is felhasználják. Az LMTK- sejt vonal tehát kritikus szerepet játszik a genetikai manipulációval kapcsolatos ismereteink bővítésében és a terápiás stratégiák kifejlesztésében.

Organism

Egér

Tissue

Bőr alatti kötőszövet, emlőburok és zsír

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negatív, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, LMTK-, L sejtek (TK-), L(TK-), L(tk-), L(tk-)

Jellemzők

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 nap

Gender

Férfi

Morphology

Fibroblaszt-szerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

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

LM/TK(LMTK-) sejtek | 305176

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekuláris adatok

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Igen, meztelen egerekben (a tumorok 21 napon belül 100%-os gyakorisággal (5/5) alakultak ki a 1×10^7 sejtet szubkután beoltott meztelen egerekben).

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal hetente 2 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

LM/TK(LMTK-) sejtek | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

LM/TK(LMTK-) sejtek | 305176

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.