

Cellule LM/TK(LMTK-) | 305176

Informazioni generali

Description

La linea cellulare LM/TK- (LMTK-) deriva da fibroblasti murini ed è caratterizzata dalla mancanza di attività della timidina chinasi (TK). Questa linea cellulare è particolarmente utile nella ricerca genetica e di biologia molecolare, dove serve come sistema modello per lo studio della funzione genica, della replicazione del DNA e della ricombinazione. L'assenza di TK in queste cellule permette di selezionare mutanti o cellule ricombinanti che hanno riacquisito l'attività TK, rendendole preziose negli studi che coinvolgono mutanti TK-deficienti e per la selezione di cloni TK-positivi in seguito alla trasfezione con DNA esogeno. Questa linea cellulare, derivata da una sotto-linea della linea cellulare di fibroblasti di topo L-M resistente alla BUdR, è potenzialmente utilizzabile per studi genetici e biochimici come il trasferimento genico e l'ibridazione di cellule somatiche. Le cellule LM/TK- sono comunemente impiegate nelle ricerche che riguardano il gene della timidina chinasi del virus dell'herpes simplex (HSV), in quanto forniscono uno sfondo cruciale per la selezione dei trasformanti del gene HSV-TK. Ciò ha implicazioni significative nella ricerca sulla terapia genica, dove HSV-TK viene utilizzato in strategie di terapia genica suicida per uccidere selettivamente le cellule tumorali. Inoltre, queste cellule sono utilizzate nella produzione di virus ricombinanti e nell'analisi dell'espressione e della replicazione dei geni virali. La linea cellulare LMTK svolge quindi un ruolo cruciale nel far progredire la nostra comprensione della manipolazione genetica e nello sviluppo di strategie terapeutiche.

Organism

Mouse

Tissue

Tessuto connettivo sottocutaneo, areola mammaria e grasso

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negativo, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L cellule (TK-), L(TK-), L(tk-)

Caratteristiche

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 giorni

Gender

Uomo

Morphology

Simile a un fibroblasto

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

LM/TK(LMTK-) (numero di catalogo Cytion 305176)

Biosafety level

1

Cellule LM/TK(LMTK-) | 305176**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4536**Dati biomolecolari****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Sì, nei topi nudi (i tumori si sono sviluppati entro 21 giorni con una frequenza del 100% (5/5) nei topi nudi inoculati per via sottocutanea con 1×10^7 cellule).**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** 1: 3 a 1: 4**Fluid renewal** 2 volte a settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule LM/TK(LMTK-) | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule LM/TK(LMTK-) | 305176

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.