

## LM/TK(LMTK-) ląstelės | 305176

## Bendra informacija

## Description

LM/TK- (LMTK-) ląstelių linija yra kilusi iš pelės fibroblastų ir pasižymi tuo, kad neturi timidinkinazės (TK) aktyvumo. Ši ląstelių linija ypač naudinga genetiniuose ir molekulinės biologijos tyrimuose, kur ji naudojama kaip modelinė sistema genų funkcijai, DNR replikacijai ir rekombinacijai tirti. Dėl TK nebuvimo šiose ląstelėse galima atrinkti mutantus arba rekombinantines ląsteles, kuriose TK aktyvumas yra atkurtas, todėl jos yra vertingos atliekant tyrimus, susijusius su TK stokojančiais mutantais, ir atrenkant TK teigiamus klonus po transfekcijos egzogenine DNR. Šią ląstelių liniją, gautą iš L-M pelių fibroblastų ląstelių linijos, kuri yra atspari BUdR, galima naudoti genetiniams ir biocheminiams tyrimams, pavyzdžiui, genų perkėlimui ir somatinių ląstelių hibridizacijai. LM/TK- ląstelės paprastai naudojamos atliekant tyrimus, susijusius su herpes simplekso viruso (HSV) timidino kinazės genu, nes jos yra labai svarbus fonas HSV-TK genų transformantams atrinkti. Tai turi didelę reikšmę genų terapijos tyrimams, kai HSV-TK naudojamas savižudiškos genų terapijos strategijose, siekiant selektyviai sunaikinti vėžines ląsteles. Be to, šios ląstelės naudojamos gaminant rekombinantinius virusus ir analizuojant virusų genų raišką bei replikaciją. Taigi LMTK- ląstelių linija atlieka labai svarbų vaidmenį gerinant mūsų supratimą apie genetines manipuliacijas ir kuriant gydymo strategijas.

## Organism

Pelė

## Tissue

Poodinis jungiamasis audinys, krūtis areolė ir riebalai

## Synonyms

L-M[TK-], LM TK neigiamas, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L ląstelės (TK-), L(TK-), L(tk-), L(tk-)

## Charakteristikos

## Breed/Subspecies

C3H/An

## Age

100 dienų

## Gender

Vyras

## Morphology

] fibroblastus panašus

## Growth properties

Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

## Citation

LM/TK(LMTK-) (Cytion katalogo numeris 305176)

## Biosafety level

1

## LM/TK(LMTK-) ląstelės | 305176

NCBI\_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL\_4536

## Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression H-2k

**Tumorigenic** Taip, nuogosiose pelėse (navikai išsivystė per 21 dieną 100 % dažniu (5/5) nuogosiose pelėse, kurioms po oda buvo įskiepytos  $1 \times 10^7$  ląstelės).

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Fluid renewal** 2 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## LM/TK(LMTK-) ląstelės | 305176

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**LM/TK(LMTK-) ląstelės | 305176**

**Storage  
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.