

LM/TK(LMTK-) šūnas | 305176

Vispārīga informācija

Description

LM/TK- (LMTK-) šūnu līnija ir atvasināta no peļu fibroblastiem, un tai ir raksturīgs timidīnkināzes (TK) aktivitātes trūkums. Šī šūnu līnija ir īpaši noderīga ģenētikas un molekulārās bioloģijas pētījumos, kur tā kalpo kā modeļsistēma gēnu funkcijas, DNS replikācijas un rekombinācijas izpētei. TK neesamība šajās šūnās ļauj atlasīt mutantus vai rekombinantās šūnas, kas ir atguvušas TK aktivitāti, padarot tās vērtīgas pētījumos ar TK deficīta mutantiem un TK pozitīvu klonu atlasē pēc transfekcijas ar eksogēnu DNS. Šo šūnu līniju, kas iegūta no L-M peļu fibroblastu šūnu līnijas apakšlīnijas, kura ir rezidenta pret BUdR, var izmantot ģenētiskos un bioķīmiskos pētījumos, piemēram, gēnu pārnēsē un somatisko šūnu hibridizācijā. LM/TK-šūnas parasti izmanto pētījumos, kas saistīti ar herpes simplex vīrusa (HSV) timidīnkināzes gēnu, jo tās nodrošina būtisku fonu HSV-TK gēna transformantu atlasei. Tam ir būtiska nozīme gēnu terapijas pētījumos, kur HSV-TK izmanto pašnāvnieciskās gēnu terapijas stratēģijās, lai selektīvi iznīcinātu vēža šūnas. Turklāt šīs šūnas tiek izmantotas rekombinantu vīrusu ražošanā un vīrusu gēnu ekspresijas un replikācijas analīzē. Tādējādi LMTK-šūnu līnijai ir izšķiroša nozīme, lai uzlabotu mūsu izpratni par ģenētiskajām manipulācijām un terapeitisko stratēģiju izstrādi.

Organism

Pele

Tissue

Zemādas saistaudi, krūts areola un tauki

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negatīvs, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L šūnas (TK-), L(TK-), L(TK-), L(tk-)

Raksturojums

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 dienas

Gender

Vīrieši

Morphology

Fibroblastiem līdzīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

LM/TK(LMTK-) (Cytion kataloga numurs 305176)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

LM/TK(LMTK-) šūnas | 305176

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekulārie dati

Antigen expression

H-2k

TumorigenicJā, kailām pelēm (audzēji attīstījās 21 dienu laikā ar 100 % biežumu (5/5) kailām pelēm, kurām subkutāni ievadīja 1×10^7 šūnas).

Darbs ar

Culture MediumDMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements**

Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal

2 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

LM/TK(LMTK-) šūnas | 305176

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LM/TK(LMTK-) šūnas | 305176

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.