

LM/TK (LMTK-) cellen | 305176

Algemene informatie

Description

De LM/TK- (LMTK-) cellijn is afgeleid van muizenfibroblasten en wordt gekenmerkt door het ontbreken van thymidinekinase (TK)-activiteit. Deze cellijn is vooral nuttig in genetisch en moleculair biologisch onderzoek, waar het dient als modelsysteem voor het bestuderen van genfunctie, DNA-replicatie en recombinatie. De afwezigheid van TK in deze cellen maakt de selectie mogelijk van mutanten of recombinante cellen die weer TK-activiteit hebben, waardoor ze waardevol zijn in studies met TK-deficiënte mutanten en voor de selectie van TK-positieve klonen na transfectie met exogeen DNA. Deze cellijn, afgeleid van een sublijn van de L-M-muisfibroblastcellijn die resistent is tegen BUdR, kan mogelijk worden gebruikt voor genetische en biochemische studies zoals genoverdracht en somatische celhybridisatie. LM/TK-cellen worden vaak gebruikt in onderzoek waarbij het herpes simplex virus (HSV) thymidinekinase gen betrokken is, omdat ze een cruciale achtergrond vormen voor de selectie van HSV-TK gen-transformanten. Dit heeft belangrijke implicaties voor genterapie-onderzoek, waarbij HSV-TK wordt gebruikt in zelfmoord-genterapie-strategieën om kankercellen selectief te doden. Bovendien worden deze cellen gebruikt bij de productie van recombinante virussen en bij de analyse van virale genexpressie en replicatie. De LMTK-celijn speelt dus een cruciale rol in het bevorderen van ons begrip van genetische manipulatie en de ontwikkeling van therapeutische strategieën.

Organism

Muis

Tissue

Onderhuids bindweefsel, tepelhof en vet

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negatief, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L-cellen (TK-), L(TK-), L(tk-)

Kenmerken

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 dagen

Gender

Mannelijk

Morphology

Fibroblast-achtige

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

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

Biosafety level

1

LM/TK (LMTK-) cellen | 305176

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Ja, bij naakte muizen (tumoren ontwikkelden zich binnen 21 dagen met een frequentie van 100% (5/5) bij naakte muizen die subcutaan werden geïnoculeerd met 1×10^7 cellen).

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1: 3 tot 1: 4

Fluid renewal 2 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

LM/TK (LMTK-) cellen | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

LM/TK (LMTK-) cellen | 305176

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.