

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Generell informasjon

Description

LM/TK- (LMTK-) cellelinjen er avledet fra murine fibroblaster og kjennetegnes ved at den mangler tymidinkinase (TK)-aktivitet. Denne cellelinjen er spesielt nyttig i genetisk og molekylærbiologisk forskning, der den fungerer som et modellsystem for å studere genfunksjon, DNA-replikasjon og rekombinasjon. Fraværet av TK i disse cellene gjør det mulig å velge ut mutanter eller rekombinante celler som har fått tilbake TK-aktiviteten, noe som gjør dem verdifulle i studier som involverer TK-mangelfulle mutanter og for utvelgelse av TK-positive kloner etter transfeksjon med eksogent DNA. Denne cellelinjen, som er avledet fra en underlinje av L-M-musefibroblastcellelinjen som er resistent mot BUdR, kan potensielt brukes til genetiske og biokjemiske studier som genoverføring og somatisk cellehybridisering. LM/TK-celler brukes ofte i forskning som involverer herpes simplex-virusets (HSV) tymidinkinase-gen, ettersom de utgjør en viktig bakgrunn for seleksjon av HSV-TK-gen-transformanter. Dette har stor betydning for genterapiforskning, der HSV-TK brukes i selvmordsstrategier for genterapi for selektivt å drepe kreftceller. I tillegg brukes disse cellene i produksjon av rekombinante virus og i analyser av viralt genuttrykk og replikasjon. LMTK-cellelinjen spiller dermed en avgjørende rolle for vår forståelse av genmanipulering og utvikling av terapeutiske strategier.

Organism

Mus

Tissue

Subkutan bindevev, brystvorte og fett

Synonyms

L-M[TK-], LM TK-negativ, L-M (TK-), L M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L-celler (TK-), L(TK-), L(tk-)

Kjennetegn

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 dager

Gender

Mann

Morphology

Fibroblast-lignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

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

Biosafety level

1

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekylære data

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Ja, hos nakne mus (svulster utviklet seg innen 21 dager med 100 % frekvens (5/5) hos nakne mus som ble podet subkutan med 1×10^7 celler).

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1: 3 til 1: 4

Fluid renewal 2 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.