

Komórki LM/TK(LMTK-) | 305176**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa LM/TK- (LMTK-) pochodzi z mysich fibroblastów i charakteryzuje się brakiem aktywności kinazy tymidynowej (TK). Ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna w badaniach genetycznych i biologii molekularnej, gdzie służy jako modelowy system do badania funkcji genów, replikacji DNA i rekombinacji. Brak TK w tych komórkach pozwala na selekcję mutantów lub komórek rekombinowanych, które odzyskały aktywność TK, co czyni je cennymi w badaniach obejmujących mutanty z niedoborem TK oraz do selekcji klonów TK-dodatnich po transfekcji egzogennym DNA. Ta linia komórkowa, pochodząca z podlinii linii komórkowej mysich fibroblastów L-M, która jest odporna na BUdR, jest potencjalnie wykorzystywana do badań genetycznych i biochemicznych, takich jak transfer genów i hybrydyzacja komórek somatycznych. Komórki LM/TK są powszechnie wykorzystywane w badaniach nad genem kinazy tymidynowej wirusa opryszczki pospolitej (HSV), ponieważ stanowią kluczowe tło dla selekcji transformantów genu HSV-TK. Ma to znaczące implikacje w badaniach nad terapią genową, gdzie HSV-TK jest wykorzystywany w strategiach samobójczej terapii genowej do selektywnego zabijania komórek nowotworowych. Ponadto, komórki te są wykorzystywane w produkcji rekombinowanych wirusów oraz w analizie ekspresji i replikacji genów wirusowych. Linia komórkowa LMTK odgrywa zatem kluczową rolę w pogłębianiu naszego zrozumienia manipulacji genetycznych i rozwoju strategii terapeutycznych.

Organism

Mysz

Tissue

Podskórna tkanka łączna, otoczką sutkowa i tłuszcz

Synonyms

L-M[TK-], LM TK ujemny, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L komórki (TK-), L(TK-), L(tk-)

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 dni

Gender

Męczyzna

Morphology

Podobny do fibroblastów

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

LM/TK(LMTK-) (numer katalogowy Cytion 305176)

Biosafety level

1

Komórki LM/TK(LMTK-) | 305176**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4536**Dane biomolekularne****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Tak, u myszy nagich (nowotwory rozwinęły się w ciągu 21 dni z częstotliwością 100% (5/5) u myszy nagich, którym podskórnie wstrzyknięto 1×10^7 komórek).**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1: 3 do 1: 4**Fluid renewal** 2 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki LM/TK(LMTK-) | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki LM/TK(LMTK-) | 305176

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.