

Células LM/TK(LMTK-) | 305176**Informações gerais****Description**

A linha celular LM/TK- (LMTK-) é derivada de fibroblastos murinos e caracteriza-se pela ausência de atividade da timidina quinase (TK). Esta linha celular é particularmente útil na investigação em genética e biologia molecular, onde serve de sistema modelo para estudar a função dos genes, a replicação do ADN e a recombinação. A ausência de TK nestas células permite a seleção de mutantes ou células recombinantes que recuperaram a atividade de TK, o que as torna valiosas em estudos que envolvem mutantes deficientes em TK e para a seleção de clones TK-positivos após transfecção com ADN exógeno. Esta linha celular, derivada de uma sub-linhagem da linha celular de fibroblastos de ratinho L-M que é resistente à BUdR, é potencialmente utilizada para estudos genéticos e bioquímicos, como a transferência de genes e a hibridação de células somáticas. As células LM/TK- são habitualmente utilizadas em investigação que envolve o gene da timidina quinase do vírus do herpes simplex (HSV), uma vez que constituem um fundo crucial para a seleção de transformantes do gene HSV-TK. Isto tem implicações significativas na investigação da terapia genética, em que o HSV-TK é utilizado em estratégias de terapia genética suicida para matar seletivamente células cancerígenas. Além disso, estas células são utilizadas na produção de vírus recombinantes e na análise da expressão e replicação de genes virais. A linha celular LMTK- desempenha assim um papel fundamental no avanço da nossa compreensão da manipulação genética e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

Organism

Rato

Tissue

Tecido conjuntivo subcutâneo, aréola mamária e gordura

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negativo, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L cells (TK-), L(TK-), L(tk-)

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 dias

Gender

Masculino

Morphology

Tipo fibroblastos

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

LM/TK(LMTK-) (número de catálogo Cytion 305176)

Biosafety level

1

Células LM/TK(LMTK-) | 305176**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4536**Dados biomoleculares****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Sim, em ratos nude (os tumores desenvolveram-se em 21 dias com uma frequência de 100% (5/5) em ratos nude inoculados por via subcutânea com 1×10^7 células).**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1: 3 a 1: 4**Fluid renewal** 2 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células LM/TK(LMTK-) | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células LM/TK(LMTK-) | 305176

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.