

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Allmän information

Description

LM/TK- (LMTK-) cellinjen härrör från murina fibroblaster och kännetecknas av avsaknad av tymidinkinas (TK)-aktivitet. Denna cellinje är särskilt användbar inom genetisk och molekylärbiologisk forskning, där den fungerar som ett modellsystem för att studera genfunktion, DNA-replikation och rekombination. Frånvaron av TK i dessa celler möjliggör urval av mutanter eller rekombinanta celler som har återfått TK-aktivitet, vilket gör dem värdefulla i studier som involverar mutanter med TK-brist och för urval av TK-positiva kloner efter transfektion med exogent DNA. Denna cellinje, som härrör från en sublinje av musfibroblastcellinjen L-M som är resistent mot BUdR, kan potentiellt användas för genetiska och biokemiska studier såsom genöverföring och somatisk cellhybridisering. LM/TK-celler används vanligen i forskning som involverar herpes simplex-virusets (HSV) tymidinkinasgen, eftersom de utgör en viktig bakgrund för urvalet av HSV-TK-genttransformanter. Detta har betydande konsekvenser för genterapiforskning, där HSV-TK används i självmordsstrategier för genterapi för att selektivt döda cancerceller. Dessutom används dessa celler vid produktion av rekombinanta virus och vid analys av virala geners uttryck och replikation. LMTK-cellinjen spelar således en avgörande roll för att öka vår förståelse för genetisk manipulation och för utvecklingen av terapeutiska strategier.

Organism

Mus

Tissue

Subkutan bindväv, bröstvätskörtlar och fett

Synonyms

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

Egenskaper

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 dagar

Gender

Man

Morphology

Fibroblast-liknande

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation

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

Biosafety level

1

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Biomolekylära data

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Ja, hos nakna möss (tumörer utvecklades inom 21 dagar med 100 % frekvens (5/5) hos nakna möss som injicerats subkutant med 1×10^7 celler).

Hantering

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

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio 1: 3 till 1: 4

Fluid renewal 2 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

LM/TK(LMTK-)-celler | 305176

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.