

**Bunky LM/TK(LMTK-) | 305176****Všeobecné informácie****Description**

Bunkové línie LM/TK- (LMTK-) sú odvodené z myších fibroblastov a vyznačujú sa absenciou aktivity tymidínkinázy (TK). Táto bunková línia je obzvlášť užitočná v genetickom a molekulárno-biologickom výskume, kde slúži ako modelový systém na štúdium funkcie génov, replikácie DNA a rekombinácie. Absencia TK v týchto bunkách umožňuje výber mutantov alebo rekombinantných buniek, ktoré znovu získali aktivitu TK, čo ich robí cennými v štúdiách zahŕňajúcich mutanty s deficitom TK a na výber klonov pozitívnych na TK po transfekcii exogénnou DNA. Táto bunková línia odvodená z podlínie bunkovej línie myších fibroblastov L-M, ktorá je rezistentná voči BUdR, sa potenciálne používa na genetické a biochemické štúdie, ako je prenos génov a hybridizácia somatických buniek. LM/TK- bunky sa bežne používajú vo výskume zahŕňajúcom gén tymidínkinázy vírusu herpes simplex (HSV), pretože poskytujú rozhodujúce pozadie pre výber transformantov génu HSV-TK. To má významné dôsledky vo výskume génovej terapie, kde sa HSV-TK používa v stratégiách samovražednej génovej terapie na selektívne zabíjanie rakovinových buniek. Okrem toho sa tieto bunky využívajú pri výrobe rekombinantných vírusov a pri analýze expresie a replikácie vírusových génov. Bunková línia LMTK tak zohráva rozhodujúcu úlohu pri zlepšovaní nášho chápania genetickej manipulácie a pri vývoji terapeutických stratégií.

**Organism**

Myš

**Tissue**

Podkožné spojivé tkanivo, areola prsníka a tuk

**Synonyms**

L-M[TK-], LM TK negatívny, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L bunky (TK-), L(TK-), L(tk-)

**Charakteristika****Breed/Subspecies**

C3H/An

**Age**

100 dní

**Gender**

Muži

**Morphology**

Fibroblastom podobné

**Growth properties**

Adherent

**Regulačné údaje****Citation**

LM/TK(LMTK-) (katalógové číslo Cytion 305176)

**Biosafety level**

1

**Bunky LM/TK(LMTK-) | 305176**

NCBI\_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL\_4536

**Biomolekulárne údaje**

Antigen expression H-2k

**Tumorigenic** Áno, u nahých myší (nádory sa vyvinuli do 21 dní so 100 % frekvenciou (5/5) u nahých myší, ktorým bolo podkožne podaných  $1 \times 10^7$  buniek).**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky LM/TK(LMTK-) | 305176

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky LM/TK(LMTK-) | 305176

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.