

LM/TK(LMTK-) Hücreleri | 305176

Genel bilgi

Description

LM/TK- (LMTK-) hücre hattı, murin fibroblastlarından türetilmiştir ve timidin kinaz (TK) aktivitesinin olmaması ile karakterize edilir. Bu hücre dizisi özellikle genetik ve moleküler biyoloji araştırmalarında yararlı olup gen fonksiyonu, DNA replikasyonu ve rekombinasyonu incelemek için bir model sistem olarak hizmet vermektedir. Bu hücrelerde TK'nın bulunmaması, TK aktivitesini yeniden kazanmış mutantların veya rekombinant hücrelerin seçilmesine olanak tanıyarak, TK eksikliği olan mutantları içeren çalışmalarda ve eksojen DNA ile transfeksiyonu takiben TK-pozitif klonların seçilmesinde onları değerli kılar. BUdR'ye dirençli L-M fare fibroblast hücre hattının bir alt hattından türetilen bu hücre hattı, gen transferi ve somatik hücre hibridizasyonu gibi genetik ve biyokimyasal çalışmalar için potansiyel olarak kullanılır. LM/TK- hücreleri, HSV-TK gen transformantlarının seçimi için çok önemli bir arka plan sağladığından, herpes simpleks virüsü (HSV) timidin kinaz genini içeren araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun, HSV-TK'nın kanser hücrelerini seçici olarak öldürmek için intihar gen terapisi stratejilerinde kullanıldığı gen terapisi araştırmalarında önemli etkileri vardır. Ayrıca, bu hücreler rekombinant virüslerin üretiminde ve viral gen ekspresyonu ve replikasyonunun analizinde kullanılmaktadır. Bu nedenle LMTK hücre hattı, genetik manipülasyon anlayışımızın ilerletilmesinde ve terapötik stratejilerin geliştirilmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

Organism

Fare

Tissue

Deri Altı Bağ Dokusu, Meme Areolası ve Yağ

Synonyms

L-M[TK-], LM TK negatif, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L hücreleri (TK-), L(TK-), L(tk-)

Özellikler

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 gün

Gender

Erkek

Morphology

Fibroblast Benzeri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

LM/TK (LMTK-) (Cytion katalog numarası 305176)

Biosafety level

1

LM/TK(LMTK-) Hücreleri | 305176**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4536**Biyomoleküler Veriler****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Evet, çıplak farelerde (1×10^7 hücre ile deri altına aşılanan çıplak farelerde 21 gün içinde %100 sıklıkla (5/5) tümörler gelişti).**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

LM/TK(LMTK-) Hücreleri | 305176**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

LM/TK(LMTK-) Hücreleri | 305176

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.