

Клітини LM/TK(LMTK-) | 305176

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія LM/TK- (LMTK-) отримана з мишачих фібробластів і характеризується відсутністю активності тимідинкінази (ТК). Ця лінія клітин є особливо корисною в генетичних та молекулярно-біологічних дослідженнях, де вона слугує модельною системою для вивчення функцій генів, реплікації та рекомбінації ДНК. Відсутність ТК в цих клітинах дозволяє відбирати мутанти або рекомбінантні клітини, які відновили ТК-активність, що робить їх цінними в дослідженнях з мутантами з дефіцитом ТК, а також для відбору ТК-позитивних клонів після трансфекції екзогенною ДНК. Ця клітинна лінія, отримана з сублінії фібробластів миші L-M, стійкої до BUdR, потенційно може бути використана для генетичних і біохімічних досліджень, таких як перенесення генів і гібридизація соматичних клітин. LM/TK-клітини широко використовуються в дослідженнях гена тимідинкінази вірусу простого герпесу (HSV), оскільки вони забезпечують важливий фон для відбору трансформантів гена HSV-TK. Це має важливе значення для досліджень генної терапії, де HSV-TK використовується в стратегіях суїцидальної генної терапії для селективного знищення ракових клітин. Крім того, ці клітини використовуються у виробництві рекомбінантних вірусів і в аналізі експресії та реплікації вірусних генів. Таким чином, клітинні лінії LMTK відіграють важливу роль у поглибленні нашого розуміння генетичних маніпуляцій та розробці терапевтичних стратегій.

Organism

Миша

Tissue

Підшкірна сполучна тканина, ареола та жир молочної залози

Synonyms

L-M[TK-], LM TK негативний, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, L клітин (TK-), L(TK-), L(tk-), L(tk-)

Характеристики

Breed/Subspecies

СЗН/An

Age

100 днів

Gender

Чоловік

Morphology

Фібробластоподібні

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

LM/TK(LMTK-) (номер за каталогом 305176)

Клітини LM/TK(LMTK-) | 305176

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4536

Біомолекулярні дані

Antigen expression H-2k

Tumorigenic Так, у голих мишей (пухлини розвинулися протягом 21 дня з частотою 100% (5/5) у голих мишей, яким підшкірно ввели 1×10^7 клітин).

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Fluid renewal 2 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини LM/TK(LMTK-) | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини LM/TK(LMTK-) | 305176

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.