

Células LM/TK (LMTK-) | 305176

Información general

Description

La línea celular LM/TK- (LMTK-) se deriva de fibroblastos murinos y se caracteriza por la ausencia de actividad de la timidina quinasa (TK). Esta línea celular es particularmente útil en la investigación en biología genética y molecular, donde sirve como sistema modelo para estudiar la función génica, la replicación del ADN y la recombinación. La ausencia de TK en estas células permite la selección de mutantes o células recombinantes que han recuperado la actividad de la TK, lo que las hace valiosas en estudios que involucran mutantes con deficiencia de TK y para la selección de clones positivos para TK tras la transfección con ADN exógeno. Esta línea celular, derivada de una sublínea de la línea de fibroblastos de ratón L-M que es resistente a la BUdR, se utiliza potencialmente para estudios genéticos y bioquímicos, tales como la transferencia génica y la hibridación de células somáticas. Las células LM/TK- se emplean comúnmente en investigaciones relacionadas con el gen de la timidina quinasa del virus del herpes simple (VHS), ya que proporcionan un fondo crucial para la selección de transformantes del gen HSV-TK. Esto tiene implicaciones significativas en la investigación de la terapia génica, donde el HSV-TK se utiliza en estrategias de terapia génica suicida para eliminar selectivamente las células cancerosas. Además, estas células se utilizan en la producción de virus recombinantes y en el análisis de la expresión y replicación de genes virales. La línea celular LMTK- desempeña, por lo tanto, un papel fundamental en el avance de nuestro conocimiento sobre la manipulación genética y el desarrollo de estrategias terapéuticas.

Organism Ratón

Tissue Tejido conectivo subcutáneo, areola mamaria y tejido adiposo

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

Características

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 días

Gender Hombre

Morphology De tipo fibroblástico

Growth properties Adherente

Datos normativos

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

Células LM/TK (LMTK-) | 305176**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4536**Datos biomoleculares****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Sí, en ratones desnudos (los tumores se desarrollaron en un plazo de 21 días con una frecuencia del 100 % (5/5) en ratones desnudos a los que se les inoculó por vía subcutánea 1×10^7 células).**Manejo****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO_3 , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.**Fluid renewal** 2 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células LM/TK (LMTK-) | 305176

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células LM/TK (LMTK-) | 305176

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.