

**Cellules LM/TK (LMTK-) | 305176****Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire LM/TK- (LMTK-) est dérivée de fibroblastes murins et se caractérise par l'absence d'activité de la thymidine kinase (TK). Cette lignée cellulaire est particulièrement utile dans la recherche en biologie génétique et moléculaire, où elle sert de système modèle pour l'étude de la fonction des gènes, de la réplication de l'ADN et de la recombinaison. L'absence de TK dans ces cellules permet la sélection de mutants ou de cellules recombinantes ayant retrouvé une activité TK, ce qui les rend précieuses dans les études portant sur des mutants déficients en TK et pour la sélection de clones TK-positifs à la suite d'une transfection avec de l'ADN exogène. Cette lignée cellulaire, dérivée d'une sous-lignée de la lignée de fibroblastes de souris L-M résistante au BUdR, peut être utilisée pour des études génétiques et biochimiques telles que le transfert de gènes et l'hybridation de cellules somatiques. Les cellules LM/TK- sont couramment utilisées dans la recherche portant sur le gène de la thymidine kinase du virus de l'herpès simplex (HSV), car elles constituent un support essentiel pour la sélection de transformants du gène HSV-TK. Cela a des implications importantes dans la recherche en thérapie génique, où l'HSV-TK est utilisé dans des stratégies de thérapie génique suicidaire visant à détruire sélectivement les cellules cancéreuses. De plus, ces cellules sont utilisées dans la production de virus recombinants ainsi que dans l'analyse de l'expression et de la réplication des gènes viraux. La lignée cellulaire LMTK- joue ainsi un rôle essentiel dans l'avancement de notre compréhension de la manipulation génétique et dans l'élaboration de stratégies thérapeutiques.

**Organism**

Souris

**Tissue**

Tissu conjonctif sous-cutané, aréole mammaire et tissu adipeux

**Synonyms**

L-M[TK-], LM TK négatif, L-M (TK-), L M (TK-), LM(TK-), LM(tk-), LM-TK-, LMTK-, cellules L (TK-), L(TK-), L(tk-)

**Caractéristiques****Breed/Subspecies**

C3H/An

**Age**

100 jours

**Gender**

Homme

**Morphology**

De type fibroblaste

**Growth properties**

Adepte

**Données réglementaires****Citation**

LM/TK(LMTK-) (numéro de catalogue Cytion 305176)

**Cellules LM/TK (LMTK-) | 305176****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4536**Données biomoléculaires****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Oui, chez les souris nues (des tumeurs se sont développées en moins de 21 jours avec une fréquence de 100 % (5/5) chez les souris nues ayant reçu une inoculation sous-cutanée de  $1 \times 10^7$  cellules).**Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de  $\text{NaHCO}_3$ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Fluid renewal** 2 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

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

**Contrôle de la qualité et analyse moléculaire**

**Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.