

**Células LM/TK (LMTK-) | 305176****Informações gerais****Description**

A linhagem celular LM/TK- (LMTK-) é derivada de fibroblastos murinos e caracteriza-se pela ausência de atividade da timidina quinase (TK). Essa linhagem celular é particularmente útil em pesquisas de biologia genética e molecular, nas quais serve como um sistema-modelo para o estudo da função gênica, da replicação do DNA e da recombinação. A ausência de TK nessas células permite a seleção de mutantes ou células recombinantes que recuperaram a atividade da TK, tornando-as valiosas em estudos envolvendo mutantes com deficiência de TK e para a seleção de clones TK-positivos após a transfecção com DNA exógeno. Essa linhagem celular, derivada de uma sublinhagem da linhagem de fibroblastos de camundongo L-M, que é resistente ao BUdR, é potencialmente utilizada para estudos genéticos e bioquímicos, tais como transferência gênica e hibridização de células somáticas. As células LM/TK- são comumente empregadas em pesquisas envolvendo o gene da timidina quinase do vírus do herpes simplex (HSV), pois fornecem uma base crucial para a seleção de transformantes do gene HSV-TK. Isso tem implicações significativas na pesquisa em terapia gênica, na qual o HSV-TK é utilizado em estratégias de terapia gênica suicida para matar seletivamente células cancerosas. Além disso, essas células são utilizadas na produção de vírus recombinantes e na análise da expressão e replicação de genes virais. A linhagem celular LMTK- desempenha, portanto, um papel fundamental no avanço de nossa compreensão da manipulação genética e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

**Organism**

Mouse

**Tissue**

Tecido conjuntivo subcutâneo, aréola mamária e tecido 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 dias

**Gender**

Masculino

**Morphology**

Semelhante a fibroblastos

**Growth properties**

Aderente

**Dados regulatórios****Citation**

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

**Biosafety level**

1

**Células LM/TK (LMTK-) | 305176****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4536**Dados biomoleculares****Antigen expression** H-2k**Tumorigenic** Sim, em camundongos nude (os tumores se desenvolveram em até 21 dias com frequência de 100% (5/5) nos camundongos nude inoculados por via subcutânea com  $1 \times 10^7$  células).**Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de  $\text{NaHCO}_3$ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 2 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

## Células LM/TK (LMTK-) | 305176

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

## Células LM/TK (LMTK-) | 305176

### **Sterility**

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.