

L5178Y TK+/- клонирани (3.7.2C) клетки | 305485**Обща информация****Description**

Клетъчната линия L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C е модел на миши лимфом, широко използван за ин витро тестове за генотоксичност, по-специално в теста за мутации на гена на тимидин киназа (TK) при миши лимфом (MLA). Този клон е получен от родителската клетъчна линия L5178Y, създадена от тимусен лимфом, индуциран от метилхолантрен при мишки DBA-2. Подклонът 3.7.2C е специално разработен, за да бъде хетерозиготен в локуса TK (TK+/-), което позволява селекция на TK-/- мутанти чрез събития на загуба на хетерозиготност.

Клетките L5178Y TK+/- 3.7.2C се характеризират с бързо удвояване на популацията (приблизително 8-11 часа) и стабилен модален брой хромозоми от 40. Те проявяват сложен кариотип, включващ Робертсонови сливания и специфични транслокации. Генът p53 е мутирал в тези клетки, като единият алел носи нонсенс мутация в екзон 4, а другият – миссенс мутация в екзон 5, което води до загуба на нормалната функция на p53. Този генетичен фон повишава тяхната полезност за изучаване на кластогенни и мутагенни ефекти.

Organism

Мишка

Tissue

Тимус

Disease

Лимфом на тимуса при мишки

Synonyms

L5178Y TK+/-3.7.2c, TK+/- (клонинг 3.7.2C)

Характеристики**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 месеца

Gender

Жена

Morphology

Лимфобластно-подобни

Cell type

Т-клетка

Growth properties

Окачване

Регулаторни данни**Citation**

L5178Y TK+/- клонинг (3.7.2C) (каталожен номер на Cytion 305485)

L5178Y TK+/- клонирани (3.7.2C) клетки | 305485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6665

Биомолекуларни данни**Работа с**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Добавете към средата 10% FBS и 0,1% Pluronic F-68
--------------------	---

Subculturing	Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.
---------------------	--

Seeding density	$0,1-2 \times 10^6$ клетки/мл
------------------------	-------------------------------

Fluid renewal	2 пъти седмично
----------------------	-----------------

Post-Thaw Recovery	Незабавно разреждане в 25 мл културална среда (стандарт: 8 мл)
---------------------------	--

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме 95% (об./об.) FBS + 5% (об./об.) DMSO + 0,1% Pluronic F-68 за осигуряване на адекватна жизнеспособност след размразяване, или CM-1 (каталожен номер на Cytion 800100), който съдържа оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

L5178Y TK+/- клонирани (3.7.2C) клетки | 305485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

L5178Y ТК+/- клонирани (3.7.2C) клетки | 305485

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.