

L5178Y TK+/- klon (3,7,2C) buňky | 305485**Obecné informace****Description**

Buněčná linie L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C je model myšího lymfomu široce používaný pro testování genotoxicity in vitro, zejména v testu mutace genu thymidinkinázy (TK) myšího lymfomu (MLA). Tento klon byl odvozen z rodičovské buněčné linie L5178Y, vytvořené z thymického lymfomu indukovaného methylcholanthrenem u myší DBA-2. Subklon 3.7.2C byl speciálně vyvinut tak, aby byl heterozygotní v lokusu TK (TK+/-), což umožňuje selekci mutantů TK-/- prostřednictvím událostí ztráty heterozygotnosti.

Buňky L5178Y TK+/- 3.7.2C se vyznačují rychlým časem zdvojnásobení populace (přibližně 8–11 hodin) a stabilním modálním počtem chromozomů 40. Vykazují komplexní karyotyp včetně Robertsonských fúzí a specifických translokací. Gen p53 je v těchto buňkách mutován, přičemž jeden alel nese nesmyslnou mutaci v exonu 4 a druhý alel nese missense mutaci v exonu 5, což vede ke ztrátě normální funkce p53. Toto genetické pozadí zvyšuje jejich užitečnost pro studium klastogenních a mutagenních účinků.

Organism Myš**Tissue** Thymus**Disease** Myší lymfom brzlíku**Synonyms** L5178Y TK+/-3.7.2c, TK+/- (klon 3.7.2C)**Charakteristika****Breed/Subspecies** DBA/2**Age** 8 měsíců**Gender** Ženy**Morphology** Lymfoblastům podobné**Cell type** T-buňky**Growth properties** Zavěšení**Regulační údaje****Citation** L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) (katalogové číslo Cytion 305485)

L5178Y TK+/- klon (3,7,2C) buňky | 305485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6665

Biomolekulární data**Zpracování**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium 10 % FBS a 0,1 % Pluronic F-68
--------------------	---

Subculturing	Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstředte suspenzi i adheované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.
---------------------	--

Seeding density	0,1-2 × 10 ⁶ buněk/ml
------------------------	----------------------------------

Fluid renewal	2krát týdně
----------------------	-------------

Post-Thaw Recovery	Okamžité naředění do 25 ml kultivačního média (standard: 8 ml)
---------------------------	--

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme směs 95 % (v/v) FBS + 5 % (v/v) DMSO + 0,1 % Pluronic F-68, která zajišťuje dostatečnou životaschopnost buněk po rozmrazení, nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení kryogenního stresu.
----------------------	--

L5178Y TK+/- klon (3,7,2C) buňky | 305485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

L5178Y TK+/- klon (3,7,2C) buňky | 305485

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.