

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485**Generel information****Description**

L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C-cellelinjen er en muselymfomodel, der er meget udbredt til in vitro-genotoksicitetstest, især i muselymfom-thymidinkinase (TK)-genmutationstesten (MLA). Denne klon stammer fra den oprindelige L5178Y-cellelinje, der blev etableret ud fra et thymuslymfom induceret af methylcholanthren i DBA-2-mus. 3.7.2C-subklonen blev specifikt udviklet til at være heterozygot ved TK-lokus (TK+/-), hvilket muliggør udvælgelse af TK-/--mutanter gennem tab af heterozygoti.

L5178Y TK+/- 3.7.2C-celler er kendetegnet ved deres hurtige populationfordoblingstid (ca. 8-11 timer) og stabile modale kromosomantal på 40. De udviser en kompleks karyotype, herunder Robertsonske fusioner og specifikke translokationer. P53-genet er muteret i disse celler, hvor det ene allel bærer en nonsensmutation i exon 4 og det andet en missensmutation i exon 5, hvilket resulterer i tab af normal p53-funktion. Denne genetiske baggrund øger deres anvendelighed til at studere klastogene og mutagene effekter.

Organism

Mus

Tissue

Thymus

Disease

Mus thymuslymfom

Synonyms

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

Karakteristika**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 måneder

Gender

Kvinde

Morphology

Lymfoblast-lignende

Cell type

T-celle

Growth properties

Ophængning

Regulatoriske data**Citation**

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) (Cytion-katalognummer 305485)

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6665

Biomolekylære data**Håndtering**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Tilsæt 10 % FBS og 0,1 % Pluronic F-68 til mediet
--------------------	---

Subculturing	Saml de suspendede celler i et 15 ml rør, og vask forsigtigt de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (brug 3-5 ml til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml til T25-kolber, 2,5 ml til T75-kolber) for at sikre fuld dækning af cellelaget. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 10 minutter. Efter inkubationen kombineres og centrifugeres både suspensionen og de vedhæftede celler. Efter centrifugering resuspenderes cellepelleten forsigtigt, og celsuspensionen overføres til nye kolber, der indeholder frisk medium.
---------------------	---

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

Fluid renewal	2 gange om ugen
----------------------	-----------------

Post-Thaw Recovery	Omgående fortynding i 25 ml dyrkningsmedium (standard: 8 ml)
---------------------------	--

Freeze medium	Som kryopræservationsmedium anvender vi 95 % (v/v) FBS + 5 % (v/v) DMSO + 0,1 % Pluronic F-68 for at sikre tilstrækkelig levedygtighed efter optøning, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoprotektanter og metaboliske stabilisatorer, der forbedrer genopretningen og mindsker kryoinduceret stress.
----------------------	---

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opbevaring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.