

**L5178Y TK+/- Klon (3.7.2C) Zellen | 305485****Allgemeine Informationen****Description**

Die Zelllinie L5178Y TK+/- Klon 3.7.2C ist ein Maus-Lymphom-Modell, das häufig für In-vitro-Genotoxizitätstests verwendet wird, insbesondere für den Thymidinkinase (TK)-Genmutationstest (MLA) an Maus-Lymphomen. Dieser Klon wurde aus der parentalen Zelllinie L5178Y gewonnen, die aus einem durch Methylcholanthren induzierten Thymus-Lymphom in DBA-2-Mäusen etabliert wurde. Der Subklon 3.7.2C wurde speziell entwickelt, um am TK-Locus heterozygot (TK+/-) zu sein, was die Selektion von TK-/- Mutanten durch Verlust der Heterozygotie ermöglicht.

L5178Y TK+/- 3.7.2C-Zellen zeichnen sich durch ihre schnelle Verdopplungszeit (ca. 8–11 Stunden) und eine stabile modale Chromosomenzahl von 40 aus. Sie weisen einen komplexen Karyotyp auf, der Robertson-Fusionen und spezifische Translokationen umfasst. Das p53-Gen ist in diesen Zellen mutiert, wobei ein Allel eine Nonsense-Mutation in Exon 4 und das andere eine Missense-Mutation in Exon 5 aufweist, was zum Verlust der normalen p53-Funktion führt. Dieser genetische Hintergrund erhöht ihre Nützlichkeit für die Untersuchung klastogener und mutagener Effekte.

**Organism**

Maus

**Tissue**

Thymus

**Disease**

Maus-Thymus-Lymphom

**Synonyms**

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

**Merkmale****Breed/Subspecies**

DBA/2

**Age**

8 Monate

**Gender**

Weiblich

**Morphology**

Lymphoblasten-ähnlich

**Cell type**

T-Zelle

**Growth properties**

Aufhängung

**Regulatorische Daten****Citation**

L5178Y TK+/- Klon (3.7.2C) (Cytion-Katalognummer 305485)

**L5178Y TK+/- Klon (3.7.2C) Zellen | 305485****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_6665**Biomolekulare Daten****Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Das Medium mit 10 % FBS und 0,1 % Pluronic F-68 ergänzen**Subculturing** Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhärennten Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.**Seeding density**  $0,1-2 \times 10^6$  Zellen/ml**Fluid renewal** 2 Mal pro Woche**Post-Thaw Recovery** Sofortige Verdünnung in 25 ml Kulturmedium (Standard: 8 ml)**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 95 % (v/v) FBS + 5 % (v/v) DMSO + 0,1 % Pluronic F-68, um eine ausreichende Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Regeneration zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

## L5178Y TK+/- Klon (3.7.2C) Zellen | 305485

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa  $-150$  bis  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Eine Lagerung bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

**L5178Y TK+/- Klon (3.7.2C) Zellen | 305485**

**Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA**

**Sterility**

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.