

L5178Y TK+/- Κλώνος (3.7.2C) Κύτταρα | 305485**Γενικές πληροφορίες****Description**

Η κυτταρική σειρά L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C είναι ένα μοντέλο λεμφώματος ποντικού που χρησιμοποιείται ευρέως για δοκιμές γονιδιακής τοξικότητας in vitro, ιδιαίτερα στη δοκιμή γονιδιακής μετάλλαξης της θυμιδίνης κινάσης (TK) σε λέμφωμα ποντικού (MLA). Αυτός ο κλώνος προήλθε από τη γονική κυτταρική σειρά L5178Y, η οποία δημιουργήθηκε από λέμφωμα θύμου αδένου που προκλήθηκε από μεθυλοχολανθρένιο σε ποντίκια DBA-2. Ο υποκλώνος 3.7.2C αναπτύχθηκε ειδικά για να είναι ετερόζυγος στον τόπο TK (TK+/-), επιτρέποντας την επιλογή των μεταλλαγμένων TK-/- μέσω συμβάντων απώλειας ετερόζυγης.

Τα κύτταρα L5178Y TK+/- 3.7.2C χαρακτηρίζονται από τον γρήγορο χρόνο διπλασιασμού του πληθυσμού τους (περίπου 8-11 ώρες) και τον σταθερό αριθμό χρωμοσωμάτων 40. Παρουσιάζουν έναν σύνθετο καρυότυπο που περιλαμβάνει συγχωνεύσεις Robertsonian και συγκεκριμένες μετατοπίσεις. Το γονίδιο p53 είναι μεταλλαγμένο σε αυτά τα κύτταρα, με το ένα αλληλόμορφο να φέρει μια μεταλλαγή χωρίς νόημα στο εξόνιο 4 και το άλλο μια μεταλλαγή με νόημα στο εξόνιο 5, με αποτέλεσμα την απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας του p53. Αυτό το γενετικό υπόβαθρο ενισχύει τη χρησιμότητά τους για τη μελέτη κλαστογόνων και μεταλλαξιογόνων επιδράσεων.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Θύμος

Disease

Λέμφωμα του θύμου αδένου ποντικού

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 μήνες

Gender

Γυναίκα

Morphology

Λεμφοβλάστες που μοιάζουν με λεμφοβλάστες

Cell type

T κύτταρο

Growth properties

Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

L5178Y TK+/- Κλώνος (3.7.2C) Κύτταρα | 305485**Citation** L5178Y TK+/- Κλώνος (3.7.2C) (αριθμός καταλόγου Cytion 305485)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6665**Βιομοριακά δεδομένα****Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Προσθέστε στο μέσο 10% FBS και 0,1% Pluronic F-68**Subculturing** Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.**Seeding density** 0,1-2 × 10⁶ κύτταρα/mL**Fluid renewal** 2 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery** Άμεση αραιώση σε 25 ml θρεπτικού μέσου (τυπική ποσότητα: 8 ml)**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 95% (v/v) FBS + 5% (v/v) DMSO + 0,1% Pluronic F-68 για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιέχει βελτιστοποιημένα οσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Shipping
Conditions**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

L5178Y TK+/- Κλώνος (3.7.2C) Κύτταρα | 305485

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.