

**L5178Y TK+/- kloon (3.7.2C) rakud | 305485****Üldine teave****Description**

L5178Y TK+/- kloon 3.7.2C rakuliin on hiire lümfoomi mudel, mida kasutatakse laialdaselt in vitro genotoksilisuse testimiseks, eriti hiire lümfoomi tümiidinkinaasi (TK) geeni mutatsiooni analüüsis (MLA). See kloon on saadud vanemast L5178Y rakuliinist, mis on loodud DBA-2 hiirtel metüülkolantreeni poolt indutseeritud tüümuse lümfoomist. 3.7.2C subkloon arendati spetsiaalselt TK-lokusel heterosügootseks (TK+/-), võimaldades TK-/- mutatsioonide valikut heterosügootsuse kaotuse kaudu.

L5178Y TK+/- 3.7.2C rakke iseloomustab kiire populatsiooni kahekordistumisaeg (umbes 8–11 tundi) ja stabiilne modaalne kromosoomide arv 40. Neil on keeruline kariotüüp, mis hõlmab Robertsoni fusioone ja spetsiifilisi translokatsioone. Nendes rakkudes on p53 geen mutatsiooniga, kus üks alleel kannab eksonis 4 nonsenssmutatsiooni ja teine eksonis 5 missenssmutatsiooni, mille tulemusena kaob normaalne p53 funktsioon. See geneetiline taust suurendab nende kasulikkust klastogeensete ja mutageensete mõjude uurimisel.

**Organism**

Hiir

**Tissue**

Thymus

**Disease**

Hiire tüümuse lümfoom

**Synonyms**

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

**Omadused****Breed/Subspecies**

DBA/2

**Age**

8 kuud

**Gender**

Naised

**Morphology**

Lümfoblastilaadsed

**Cell type**

T-rakk

**Growth properties**

Peatamine

**Regulatiivsed andmed****Citation**

L5178Y TK+/- kloon (3.7.2C) (Cytioni katalooginumber 305485)

**L5178Y TK+/- kloon (3.7.2C) rakud | 305485****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_6665**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i ja 0,1% Pluronic F-68-t**Subculturing** Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifugeerige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifugeerimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.**Seeding density** 0,1-2 × 10<sup>6</sup> rakku/ml**Fluid renewal** 2 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Lahjendamine kohe 25 ml kasvukeskkonnas (standard: 8 ml)**Freeze medium** Krüokonserveerimise keskkonnana kasutame 95% (v/v) FBS + 5% (v/v) DMSO + 0,1% Pluronic F-68, et tagada piisav eluvõime pärast sulatamist, või CM-1 (Cytion katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmootilisi kaitsjaid ja ainevahetuse stabilisaatoreid, et parandada rakkude taastumist ja vähendada krüokonserveerimisest tingitud stressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**L5178Y TK+/- kloon (3.7.2C) rakud | 305485**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.