

Cellules L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C est un modèle de lymphome murin largement utilisé pour les tests de génotoxicité in vitro, en particulier dans le test de mutation du gène de la thymidine kinase (TK) du lymphome murin (MLA). Ce clone est dérivé de la lignée cellulaire parentale L5178Y, établie à partir d'un lymphome thymique induit par le méthylcholanthrène chez des souris DBA-2. Le sous-clone 3.7.2C a été spécialement développé pour être hétérozygote au locus TK (TK+/-), ce qui permet la sélection de mutants TK-/- par des événements de perte d'hétérozygotie.

Les cellules L5178Y TK+/- 3.7.2C se caractérisent par leur temps de doublement rapide (environ 8 à 11 heures) et leur nombre chromosomique modal stable de 40. Elles présentent un caryotype complexe comprenant des fusions robertsoniennes et des translocations spécifiques. Le gène p53 est muté dans ces cellules, un allèle portant une mutation non-sens dans l'exon 4 et l'autre une mutation faux-sens dans l'exon 5, ce qui entraîne la perte de la fonction normale du p53. Ce contexte génétique renforce leur utilité pour l'étude des effets clastogènes et mutagènes.

Organism

Souris

Tissue

Thymus

Disease

Lymphome thymique de souris

Synonyms

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

Caractéristiques**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 mois

Gender

Femme

Morphology

De type lymphoblaste

Cell type

Cellule T

Growth properties

Suspension

Données réglementaires**Citation**

Clone L5178Y TK+/- (3.7.2C) (référence Cytion 305485)

Cellules L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6665**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,1 % de Pluronic F-68**Subculturing** Rassembler les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et laver délicatement les cellules adhérentes avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium (utiliser 3-5 ml pour les flacons T25 et 5-10 ml pour les flacons T75). Appliquer Accutase (1-2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à couvrir entièrement la couche cellulaire. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combiner et centrifuger la suspension et les cellules adhérentes. Après centrifugation, remettre soigneusement en suspension le culot cellulaire et transférer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.**Seeding density** 0,1 à 2 × 10⁶ cellules/mL**Fluid renewal** 2 fois par semaine**Post-Thaw Recovery** Dilution immédiate dans 25 ml de milieu de culture (norme : 8 ml)**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un mélange composé de 95 % (v/v) de sérum fœtal bovin (FBS) + 5 % (v/v) de diméthylsulfoxyde (DMSO) + 0,1 % de Pluronic F-68 afin d'assurer une viabilité suffisante après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.