

L5178Y TK+/- klón (3.7.2C) sejtek | 305485**Általános információk****Description**

Az L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C sejt vonal egy egér limfóma modell, amelyet széles körben használnak in vitro genotoxicitási vizsgálatokhoz, különösen az egér limfóma timidin-kináz (TK) génmutációs vizsgálatában (MLA). Ez a klón az L5178Y szülői sejt vonalból származik, amelyet DBA-2 egerekben metilkolantrénnel indukált timuslimfómából hoztak létre. A 3.7.2C szubklónt kifejezetten úgy fejlesztették ki, hogy heterozigóta legyen a TK lokuszban (TK+/-), lehetővé téve a TK-/- mutánsok kiválasztását a heterozigóta elvesztése révén.

Az L5178Y TK+/- 3.7.2C sejtek gyors populációduplázódási idővel (kb. 8-11 óra) és stabil 40-es kromoszómaszámmal jellemezhetők. Komplex kariotípust mutatnak, beleértve a Robertson-féle fúziókat és specifikus transzlokációkat. A p53 gén mutálódott ezekben a sejtekben, az egyik allél az exon 4-ben nonszensz mutációt, a másik pedig az exon 5-ben missense mutációt hordoz, ami a normális p53 funkció elvesztését eredményezi. Ez a genetikai háttér növeli hasznosságukat a klastogén és mutagén hatások tanulmányozásában.

Organism

Egér

Tissue

Thymus

Disease

Egér csecsemőmirigy-limfóma

Synonyms

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

Jellemzők**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 hónap

Gender

Női

Morphology

Limfoblaszt-szerű

Cell type

T-sejt

Growth properties

Felfüggesztés

Szabályozási adatok**Citation**

L5178Y TK+/- klón (3.7.2C) (Cytion katalógusszám: 305485)

L5178Y TK+/- klón (3.7.2C) sejtek | 305485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6665

Biomolekuláris adatok**A kezelése**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
-----------------------	--

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-sel és 0,1% Pluronic F-68-cal
--------------------	---

Subculturing	Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejt pelletet, és a sejtsuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.
---------------------	---

Seeding density	$0,1-2 \times 10^6$ sejt/ml
------------------------	-----------------------------

Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
----------------------	----------------------

Post-Thaw Recovery	Azonnali hígítás 25 ml tenyésztőközegbe (szabvány: 8 ml)
---------------------------	--

Freeze medium	Krioprezervációs táptalajként 95% (v/v) FBS + 5% (v/v) DMSO + 0,1% Pluronic F-68 keveréket használunk a felolvasztás utáni megfelelő életképesség biztosítása érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a sejtek helyreállításának elősegítése és a kriogenikus stressz csökkentése érdekében.
----------------------	--

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

L5178Y TK+/- klón (3.7.2C) sejtek | 305485

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.