

Cellule L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C è un modello di linfoma murino ampiamente utilizzato per i test di genotossicità in vitro, in particolare nel test di mutazione del gene della timidina chinasi (TK) del linfoma murino (MLA). Questo clone è stato derivato dalla linea cellulare parentale L5178Y, stabilita da un linfoma timico indotto dal metilcolantrene in topi DBA-2. Il sottoclone 3.7.2C è stato sviluppato specificamente per essere eterozigote nel locus TK (TK+/-), consentendo la selezione di mutanti TK-/- attraverso eventi di perdita di eterozigosi.

Le cellule L5178Y TK+/- 3.7.2C sono caratterizzate da un rapido tempo di raddoppio della popolazione (circa 8-11 ore) e da un numero cromosomico modale stabile di 40. Presentano un cariotipo complesso che include fusioni robertsoniane e traslocazioni specifiche. Il gene p53 è mutato in queste cellule, con un allele che porta una mutazione nonsense nell'esone 4 e l'altro una mutazione missenso nell'esone 5, con conseguente perdita della normale funzione del p53. Questo background genetico ne aumenta l'utilità per lo studio degli effetti clastogenici e mutageni.

Organism

Mouse

Tissue

Timo

Disease

Linfoma timico del topo

Synonyms

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

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 mesi

Gender

Donna

Morphology

Linfoblasto-simile

Cell type

Cellule T

Growth properties

Sospensione

Dati normativi**Citation**

Clone L5178Y TK+/- (3.7.2C) (numero di catalogo Cytion 305485)

Cellule L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6665**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Aggiungere al terreno di coltura il 10% di FBS e lo 0,1% di Pluronic F-68**Subculturing** Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Seeding density** 0,1-2 × 10⁶ cellule/mL**Fluid renewal** 2 volte a settimana**Post-Thaw Recovery** Diluire immediatamente in 25 ml di terreno di coltura (standard: 8 ml)**Freeze medium** Come mezzo di crioconservazione, utilizziamo una soluzione composta da 95% (v/v) di FBS + 5% (v/v) di DMSO + 0,1% di Pluronic F-68 per garantire un'adeguata vitalità post-scongelo, oppure CM-1 (codice catalogo Cytion 800100), che contiene osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress indotto dalla crioconservazione.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

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

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.