

L5178Y TK+/- klonas (3.7.2C) ląstelės | 305485**Bendra informacija****Description**

L5178Y TK+/- klonas 3.7.2C ląstelių linija yra pelės limfomos modelis, plačiai naudojamas in vitro genotoksiškumo tyrimams, ypač pelės limfomos timidino kinazės (TK) geno mutacijų tyrimui (MLA). Šis klonas buvo gautas iš tėvinės L5178Y ląstelių linijos, sukurta iš DBA-2 pelių metilcholantrenu sukeltos limfomos. 3.7.2C subklonas buvo specialiai sukurtas, kad būtų heterozigotinis TK lokuse (TK+/-), leidžiant atrinkti TK-/- mutantus per heterozigotijos praradimo įvykius.

L5178Y TK+/- 3.7.2C ląstelės pasižymi greitu populiacijos padvigubėjimo laiku (maždaug 8–11 valandų) ir stabiliu modaliniu chromosomų skaičiumi – 40. Jos pasižymi sudėtingu kariotipu, įskaitant Robertsono jungtis ir specifines translokacijas. Šiose ląstelėse mutavęs p53 genas, kurio vienas alelis turi nonsenso mutaciją eksone 4, o kitas – missenso mutaciją eksone 5, dėl to prarandama normali p53 funkcija. Šis genetinis fonas padidina jų naudingumą tirti klastogeninius ir mutageninius poveikius.

Organism

Pelė

Tissue

Užkrūčio liauka

Disease

Pelės užkrūčio limfoma

Synonyms

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

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 mėnesiai

Gender

Moteris

Morphology

| limfoblastus panašus

Cell type

T ląstelės

Growth properties

Pakaba

Reguliavimo duomenys**Citation**

L5178Y TK+/- klonas (3.7.2C) (Cytion katalogo numeris 305485)

L5178Y TK+/- klonas (3.7.2C) ląstelės | 305485

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6665**Biomolekuliniai duomenys****Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Pridėkite į terpę 10 % FBS ir 0,1 % Pluronic F-68**Subculturing** Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkelkite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.**Seeding density** 0,1–2 × 10⁶ ląstelių/ml**Fluid renewal** 2 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Iš karto praskiesti 25 ml auginimo terpės (standartas: 8 ml)**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 95 % (tūrio) FBS + 5 % (tūrio) DMSO + 0,1 % Pluronic F-68, siekdami užtikrinti pakankamą gyvybingumą po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurio sudėtyje yra optimizuoti osmoapsauginiai ir metabolizmo stabilizatoriai, skirti pagerinti atsigavimą ir sumažinti kriokonservavimo sukeltą stresą.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

L5178Y TK+/- klonas (3.7.2C) ląstelės | 305485

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.