

**L5178Y TK+/- klons (3.7.2C) šūnas | 305485****Vispārīga informācija****Description**

L5178Y TK+/- klons 3.7.2C šūnu līnija ir peles limfomas modelis, ko plaši izmanto in vitro genotoksicitātes testēšanai, jo īpaši peles limfomas timidīna kināzes (TK) gēna mutācijas testā (MLA). Šis klons ir iegūts no vecāku L5178Y šūnu līnijas, kas izveidota no DBA-2 pelēm metilholantrēna izraisītas timusa limfomas. 3.7.2C subklons tika īpaši izstrādāts, lai būtu heterozigots TK lokusā (TK+/-), ļaujot atlasīt TK-/- mutācijas caur heterozigotijas zuduma gadījumiem.

L5178Y TK+/- 3.7.2C šūnas raksturo ātrs populācijas dubultošanās laiks (aptuveni 8–11 stundas) un stabils modālais hromosomu skaits 40. Tām ir sarežģīts kariotips, tostarp Robertsona fūzijas un specifiskas translokācijas. Šajās šūnās ir mutēts p53 gēns, vienam alēlam ir bezjēdzīga mutācija eksonā 4, bet otram — misense mutācija eksonā 5, kas izraisa normālas p53 funkcijas zudumu. Šis ģenētiskais fons palielina to lietderību klastogēnās un mutagēnās iedarbības pētīšanā.

**Organism**

Pele

**Tissue**

Thymus

**Disease**

Peles timusa limfoma

**Synonyms**

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

**Raksturojums****Breed/Subspecies**

DBA/2

**Age**

8 mēneši

**Gender**

Sievietes

**Morphology**

Limfoblastiem līdzīgs

**Cell type**

T šūnas

**Growth properties**

Apturēšana

**Normatīvie dati****Citation**

L5178Y TK+/- klons (3.7.2C) (Cytion kataloga numurs 305485)

**L5178Y TK+/- klons (3.7.2C) šūnas | 305485**

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| <b>Biosafety level</b>      | 1         |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 10090     |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_6665 |

**Biomolekulārie dati****Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

**Supplements** Papildiniet barotni ar 10 % FBS un 0,1 % Pluronic F-68

**Subculturing** Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.

**Seeding density** 0,1-2 × 10<sup>6</sup> šūnu/ml

**Fluid renewal** 2 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Tūlītēja atšķaidīšana 25 ml barotnē (standarts: 8 ml)

**Freeze medium** Kā kriokonservācijas vidi mēs izmantojam 95 % (tilp.) FBS + 5 % (tilp.) DMSO + 0,1 % Pluronic F-68, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai arī CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas satur optimizētus osmotiskos aizsarglīdzekļus un vielmaiņas stabilizatorus, lai uzlabotu atjaunošanos un mazinātu kriogēnisko stresu.

## L5178Y TK+/- klons (3.7.2C) šūnas | 305485

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

L5178Y TK+/- klons (3.7.2C) šūnas | 305485

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.