

Komórki L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C jest modelem mysiego chłoniaka szeroko stosowanym do badań genotoksyczności in vitro, w szczególności w teście mutacji genu kinazy tymidynowej (TK) mysiego chłoniaka (MLA). Klon ten pochodzi z macierzystej linii komórkowej L5178Y, utworzonej z chłoniaka grasicy wywołanego metylcholantrenem u myszy DBA-2. Podklon 3.7.2C został specjalnie opracowany, aby był heterozygotyczny w locus TK (TK+/-), umożliwiając selekcję mutantów TK-/- poprzez utratę heterozygotyczności.

Komórki L5178Y TK+/- 3.7.2C charakteryzują się szybkim czasem podwojenia populacji (około 8-11 godzin) i stabilną modalną liczbą chromosomów wynoszącą 40. Wykazują one złożony kariotyp, w tym fuzje Robertsona i specyficzne translokacje. W komórkach tych występuje mutacja genu p53, przy czym jeden allel zawiera mutację nonsensowną w eksonie 4, a drugi mutację missense w eksonie 5, co powoduje utratę normalnej funkcji p53. To podłoże genetyczne zwiększa ich przydatność do badania skutków klastogennych i mutagennych.

Organism

Mysz

Tissue

Grasica

Disease

Chłoniak grasicy myszy

Synonyms

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

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 miesięcy

Gender

Kobieta

Morphology

Podobne do limfoblastów

Cell type

Komórka T

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne**Citation**

Klon L5178Y TK+/- (3.7.2C) (numer katalogowy Cytion 305485)

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

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6665

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Uzupełnij pożywkę 10% FBS i 0,1% Pluronic F-68
--------------------	--

Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
---------------------	--

Seeding density	0,1-2 × 10 ⁶ komórek/ml
------------------------	------------------------------------

Fluid renewal	2 razy w tygodniu
----------------------	-------------------

Post-Thaw Recovery	Natychmiastowe rozcieńczenie w 25 ml pożywki hodowlanej (norma: 8 ml)
---------------------------	---

Freeze medium	Jako pożywkę do kriokonserwacji stosujemy mieszaninę zawierającą 95% (v/v) surowicy płodowej bydlęcej (FBS) + 5% (v/v) dimetylosulfoksydu (DMSO) + 0,1% Pluronic F-68, aby zapewnić odpowiednią żywotność komórek po rozmrożeniu, lub preparat CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), który zawiera zoptymalizowane środki osmoochronne i stabilizatory metaboliczne mające na celu poprawę odzysku komórek oraz zmniejszenie stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	--

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

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.