

**Células L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485****Informações gerais****Description**

A linha celular L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C é um modelo de linfoma de camundongo amplamente utilizado para testes de genotoxicidade in vitro, particularmente no ensaio de mutação do gene da timidina quinase (TK) do linfoma de camundongo (MLA). Este clone foi derivado da linha celular parental L5178Y, estabelecida a partir de um linfoma tímico induzido por metilcolantreno em camundongos DBA-2. O subclone 3.7.2C foi desenvolvido especificamente para ser heterozigótico no locus TK (TK+/-), permitindo a seleção de mutantes TK-/- através de eventos de perda de heterozigosidade.

As células L5178Y TK+/- 3.7.2C são caracterizadas pelo seu rápido tempo de duplicação populacional (aproximadamente 8-11 horas) e número modal estável de cromossomas de 40. Apresentam um cariótipo complexo, incluindo fusões robertsonianas e translocações específicas. O gene p53 está mutado nessas células, com um alelo portando uma mutação sem sentido no exão 4 e o outro uma mutação com sentido errado no exão 5, resultando na perda da função normal do p53. Esse background genético aumenta a sua utilidade para o estudo de efeitos clastogênicos e mutagênicos.

**Organism**

Rato

**Tissue**

Timo

**Disease**

Linfoma tímico do rato

**Synonyms**

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

**Caraterísticas****Breed/Subspecies**

DBA/2

**Age**

8 meses

**Gender**

Feminino

**Morphology**

Tipo linfoblasto

**Cell type**

Célula T

**Growth properties**

Suspensão

**Dados regulamentares****Citation**

Clone L5178Y TK+/- (3.7.2C) (número de catálogo Cytion 305485)

**Células L5178Y TK+/- Clone (3.7.2C) | 305485****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_6665**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Adicione ao meio 10 % de FBS e 0,1 % de Pluronic F-68**Subculturing** Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.**Seeding density**  $0,1-2 \times 10^6$  células/mL**Fluid renewal** 2 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Diluição imediata em 25 ml de meio de cultura (padrão: 8 ml)**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 95% (v/v) de FBS + 5% (v/v) de DMSO + 0,1% de Pluronic F-68 para garantir uma viabilidade adequada após a descongelação, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela criopreservação.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

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

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.