

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485**Allmän information****Description**

Cellinjen L5178Y TK+/- Clone 3.7.2C är en muslymfommodell som används i stor utsträckning för in vitro-genotoxicitetstestning, särskilt i muslymfom-tymidinkinas (TK)-genmutationstest (MLA). Denna klon härstammar från den ursprungliga cellinjen L5178Y, som etablerades från ett tymiskt lymfom inducerat av metylkolantren i DBA-2-möss. Subklonen 3.7.2C utvecklades specifikt för att vara heterozygot vid TK-lokuset (TK+/-), vilket möjliggör selektion av TK-/-mutanter genom förlust av heterozygositet.

L5178Y TK+/- 3.7.2C-celler kännetecknas av sin snabba populationfördubblingstid (cirka 8–11 timmar) och stabila modala kromosomantal på 40. De uppvisar en komplex karyotyp inklusive Robertsonska fusioner och specifika translokationer. P53-genen är muterad i dessa celler, där en allel bär en nonsensmutation i exon 4 och den andra en missensmutation i exon 5, vilket resulterar i förlust av normal p53-funktion. Denna genetiska bakgrund ökar deras användbarhet för studier av klastogena och mutagena effekter.

Organism

Mus

Tissue

Thymus

Disease

Musens tymuslymfom

Synonyms

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

Egenskaper**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 månader

Gender

Kvinna

Morphology

Lymfoblastliknande

Cell type

T-cell

Growth properties

Avstängning

Lagstadgade uppgifter**Citation**

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

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6665**Biomolekylära data****Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Tillsätt 10 % FBS och 0,1 % Pluronic F-68 till odlingsmediet**Subculturing** Samla de suspenderade cellerna i ett 15 ml rör och tvätta försiktigt de vidhäftande cellerna med PBS utan kalcium och magnesium (använd 3-5 ml för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar). Applicera Accutase (1-2 ml för T25-kolvar, 2,5 ml för T75-kolvar) och se till att cellskiktet täcks helt. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 10 minuter. Efter inkubationen, kombinera och centrifugera både suspensionen och de vidhäftande cellerna. Efter centrifugering, resuspendera försiktigt cellpelleten och överför cellsuspensionen till nya kolvar med nytt medium.**Seeding density** 0,1-2 × 10⁶ celler/ml**Fluid renewal** 2 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Omedelbar utspädning till 25 ml odlingsmedium (standard: 8 ml)**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi 95 % (v/v) FBS + 5 % (v/v) DMSO + 0,1 % Pluronic F-68 för att säkerställa tillräcklig livskraft efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmotiska skyddsämnen och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Förvaring vid $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

L5178Y TK+/- klon (3.7.2C) celler | 305485

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.