

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

A linhagem 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). Esse clone foi derivado da linhagem 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 heterozigoto no locus TK (TK+/-), permitindo a seleção de mutantes TK-/- por meio de eventos de perda de heterozigosidade.

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

Organism

Mouse

Tissue

Timo

Disease

Linfoma do timo em camundongos

Synonyms

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

Características**Breed/Subspecies**

DBA/2

Age

8 meses

Gender

Mulher

Morphology

Do tipo linfoblasto

Cell type

Célula T

Growth properties

Suspensão

Dados regulatórios**Citation**

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

Células do clone L5178Y TK+/- (3.7.2C) | 305485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6665

Dados biomoleculares**Manuseio**

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS e 0,1% de Pluronic F-68
--------------------	---

Subculturing	Recolha as células em suspensão em um tubo de 15 ml e lave delicadamente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (use 3 a 5 ml para frascos T25 e 5 a 10 ml para frascos T75). Aplique Accutase (1 a 2 ml para frascos T25, 2,5 ml para frascos T75), garantindo a cobertura total da camada celular. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 10 minutos. Após a incubação, combine e centrifugue tanto a suspensão quanto as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspensa cuidadosamente o sedimento celular e transfira a suspensão celular para novos frascos contendo 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) DMSO + 0,1% de Pluronic F-68 para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.
----------------------	--

Células do clone L5178Y TK+/- (3.7.2C) | 305485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

**Shipping
Conditions**

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células do clone L5178Y TK+/- (3.7.2C) | 305485

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.