Product sheet

Клетките на Толедо | 305351

Обща информация

Description	Клетъчната линия „Толедо“ е клетъчна линия на дифузен голям В-клетъчен лимфом (DLBCL), която първоначално е била създадена от периферната кръв на пациент с DLBCL, при когото по-късно се е развил вторичен лимфом в мозъка след високодозова химиотерапия и трансплантация на костен мозък. Тази клетъчна линия проявява сложен кариотип с множество хромозомни аберации, но не притежава типичните транслокации, свързани с лимфома на Бъркит. Една от уникалните характеристики на клетъчната линия „Толедо“ е липсата на експресия на полипептидната верига на имуноглобулина (Ig), като в нея също липсват откриваеми генни сегменти от константната (C) област. Въпреки това „Toledo“ запазва способността да претърпява соматична хипермутация в своите променливи (V) генни сегменти – феномен, който обикновено се наблюдава в В-клетките на герминалните центрове. Интересно е, че „Toledo“ натрупва интраклонални мутации с по-висока честота в сравнение с други лимфомни клетъчни линии като „Daudi“ и „Raji“, въпреки липсата на значими клонални мутации. Това предполага, че процесът на мутация може да е продължил in vitro след трансформацията, като потенциално предлага ценен модел за изучаване на молекулярните механизми на соматичната хипермутация.
Organism	Човек
Tissue	Периферна кръв
Disease	Дифузен едроклетъчен В-клетъчен лимфом тип В-клетки с герминативен център
Applications	3D клетъчна култура, Имунология
Synonyms	ТОЛЕДО

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Лимфобласт
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Клетките на Толедо | 305351

Citation	Толедо (каталожен номер на Cytion 305351)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Биомолекулярни данни

Antigen expression	CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-
Viruses	EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -
Mutational profile	Мутация: KRAS, проста, p.Gly13Asp (c.38G>A), хетерозиготна; Мутация: TP53, проста, p.Glu198fs (c.592_596del5), неуточнена

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Няма
Doubling time	50 часа
Subculturing	Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 5 x 10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 3 x 10^5 до 1 x 10^6 клетки/ml за оптимален растеж.
Seeding density	от 2 до 4 × 10^5 клетки/мл
Fluid renewal	На всеки 2 до 3 дни

Клетките на Толедо | 305351

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетките на Толедо | 305351

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.