

## Toledovy buňky | 305351

## Obecné informace

## Description

Buněčná linie Toledo je buněčná linie difúzního velkobuněčného B-buněčného lymfomu (DLBCL), která byla původně izolována z periferní krve pacienta s DLBCL, u něhož se po vysokodávkové chemoterapii a transplantaci kostní dřeně později vyvinul sekundární lymfom v mozku. Tato buněčná linie vykazuje komplexní karyotyp s četnými chromozomálními aberacemi, nevykazuje však typické translokace spojené s Burkittovým lymfomem.

Jednou z jedinečných charakteristik buněčné linie Toledo je absence exprese polypeptidového řetězce imunoglobulinu (Ig) a také absence detekovatelných genových segmentů konstantní (C) oblasti. Navzdory tomu si Toledo zachovává schopnost podléhat somatické hypermutaci ve svých variabilních (V) genových segmentech, což je jev typicky pozorovaný u B buněk germinálních center. Zajímavé je, že Toledo akumuluje intraklonální mutace s vyšší frekvencí než jiné lymfomové buněčné linie, jako jsou Daudi a Raji, a to i přes absenci významných klonálních mutací. To naznačuje, že mutační proces mohl pokračovat in vitro i po transformaci, což potenciálně nabízí cenný model pro studium molekulárních mechanismů somatické hypermutace.

## Organism

Člověk

## Tissue

Periferní krev

## Disease

Difúzní velkobuněčný B-lymfom typu B-lymfocytů germinálního centra

## Applications

3D buněčné kultury, Imunologie

## Synonyms

TOLEDO

## Charakteristika

## Age

Dospělí

## Gender

Ženy

## Ethnicity

Kavkazský

## Morphology

Lymfoblasty

## Growth properties

Zavěšení

## Regulační údaje

## Toledovy buňky | 305351

|                 |                                         |
|-----------------|-----------------------------------------|
| <b>Citation</b> | Toledo (katalogové číslo Cytion 305351) |
|-----------------|-----------------------------------------|

|                        |   |
|------------------------|---|
| <b>Biosafety level</b> | 1 |
|------------------------|---|

|                   |      |
|-------------------|------|
| <b>NCBI_TaxID</b> | 9606 |
|-------------------|------|

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_3611 |
|-----------------------------|-----------|

## Biomolekulární data

|                           |                                          |
|---------------------------|------------------------------------------|
| <b>Antigen expression</b> | CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39- |
|---------------------------|------------------------------------------|

|                |                                                                  |
|----------------|------------------------------------------------------------------|
| <b>Viruses</b> | EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV - |
|----------------|------------------------------------------------------------------|

|                           |                                                                                                                                      |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mutational profile</b> | Mutace: KRAS, jednoduchá, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterozygotní; Mutace: TP53, jednoduchá, p.Glu198fs (c.592_596del5), nespecifikovaná |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## Zpracování

|                       |                                                                                                      |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b> | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a) |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                    |                          |
|--------------------|--------------------------|
| <b>Supplements</b> | Doplňte médium o 10% FBS |
|--------------------|--------------------------|

|                             |       |
|-----------------------------|-------|
| <b>Dissociation Reagent</b> | Žádný |
|-----------------------------|-------|

|                      |          |
|----------------------|----------|
| <b>Doubling time</b> | 50 hodin |
|----------------------|----------|

|                     |                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Subculturing</b> | Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou $5 \times 10^5$ buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí $3 \times 10^5$ až $1 \times 10^6$ buněk/ml. |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                        |                                        |
|------------------------|----------------------------------------|
| <b>Seeding density</b> | $2 \text{ až } 4 \times 10^5$ buněk/ml |
|------------------------|----------------------------------------|

|                      |                  |
|----------------------|------------------|
| <b>Fluid renewal</b> | Každé 2 až 3 dny |
|----------------------|------------------|

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Freeze medium</b> | Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo. |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Toledovy buňky | 305351****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality a molekulární analýza**

## Toledovy buňky | 305351

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.