

Toledo-celler | 305351

Generel information

Description

Toledo-cellelinjen er en cellelinje fra et diffust storcellet B-celle-lymfom (DLBCL), der oprindeligt blev etableret ud fra perifert blod fra en patient med DLBCL, som senere udviklede et sekundært lymfom i hjernen efter højdosis-kemoterapi og knoglemarvstransplantation. Denne cellelinje udviser en kompleks karyotype med flere kromosomafvigelser, men har ikke de typiske translokationer, der er forbundet med Burkitts lymfom.

Et af de unikke kendetegn ved Toledo-cellelinjen er dens manglende ekspression af immunoglobulin (Ig)-polypeptidkæder, og den mangler også påviselige gensegmenter i den konstante (C) region. På trods heraf bevarer Toledo evnen til at gennemgå somatisk hypermutation i sine variable (V) gensegmenter, et fænomen, der typisk observeres i B-celler i germinalcentret. Interessant nok akkumulerer Toledo intraklonale mutationer med en højere frekvens end andre lymfomcellelinjer såsom Daudi og Raji, på trods af fraværet af signifikante klonale mutationer. Dette tyder på, at mutationsprocessen muligvis er fortsat in vitro efter transformationen, hvilket potentielt udgør en værdifuld model til at studere de molekylære mekanismer bag somatisk hypermutation.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Disease

Diffust storcellet B-celle-lymfom af typen germinalcenter B-celle

Applications

3D-cellekultur, Immunologi

Synonyms

TOLEDO

Karakteristika

Age

Voksen

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Ophængning

Regulatoriske data

Citation

Toledo (Cytion-katalognummer 305351)

Toledo-celler | 305351

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Ingen
Doubling time	50 timer
Subculturing	Vedligehold kulturerne ved regelmæssigt at tilføje eller udskifte mediet. Start kulturerne med en tæthed på 5×10^5 celler/ml og hold cellekoncentrationen inden for området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vækst.
Seeding density	2 til 4×10^5 celler/ml
Fluid renewal	Hver 2. til 3. dag
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Toledo-celler | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Toledo-celler | 305351

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.