

Toledo-Zellen | 305351

Allgemeine Informationen

Description

Die Toledo-Zelllinie ist eine Zelllinie des diffusen großzelligen B-Zell-Lymphoms (DLBCL), die ursprünglich aus dem peripheren Blut eines Patienten mit DLBCL gewonnen wurde, bei dem sich nach einer hochdosierten Chemotherapie und einer Knochenmarktransplantation später ein sekundäres Lymphom im Gehirn entwickelte. Diese Zelllinie weist einen komplexen Karyotyp mit mehreren Chromosomenaberrationen auf, besitzt jedoch nicht die für das Burkitt-Lymphom typischen Translokationen.

Eines der einzigartigen Merkmale der Toledo-Zelllinie ist das Fehlen der Expression von Immunglobulin (Ig)-Polypeptidketten; zudem fehlen nachweisbare Gensegmente der konstanten (C-)Region. Trotzdem behält Toledo die Fähigkeit bei, in seinen variablen (V)-Gensegmenten eine somatische Hypermutation zu durchlaufen – ein Phänomen, das typischerweise in B-Zellen des Keimzentrums beobachtet wird. Interessanterweise akkumuliert Toledo intraklonale Mutationen mit einer höheren Frequenz als andere Lymphomzelllinien wie Daudi und Raji, obwohl keine signifikanten klonalen Mutationen vorliegen. Dies deutet darauf hin, dass der Mutationsprozess nach der Transformation in vitro fortgesetzt worden sein könnte, was potenziell ein wertvolles Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen der somatischen Hypermutation darstellt.

Organism

Menschen

Tissue

Peripheres Blut

Disease

Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom vom Typ Keimzentrum-B-Zelle

Applications

3D-Zellkultur, Immunologie

Synonyms

TOLEDO

Merkmale

Age

Erwachsener

Gender

Weiblich

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Lymphoblasten

Growth properties

Aufhängung

Regulatorische Daten

Toledo-Zellen | 305351

Citation	Toledo (Cytion-Katalognummer 305351)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3611
-----------------------------	-----------

Biomolekulare Daten

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, einfach, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterozygot; Mutation: TP53, einfach, p.Glu198fs (c.592_596del5), nicht näher bezeichnet
---------------------------	---

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
--------------------	-------------------------------------

Dissociation Reagent	Keine
-----------------------------	-------

Doubling time	50 Stunden
----------------------	------------

Subculturing	Halten Sie die Kulturen aufrecht, indem Sie regelmäßig Medium hinzufügen oder austauschen. Beginnen Sie die Kulturen mit einer Dichte von 5×10^5 Zellen/ml und halten Sie die Zellkonzentration im Bereich von 3×10^5 bis 1×10^6 Zellen/ml, um ein optimales Wachstum zu erzielen.
---------------------	---

Seeding density	2 bis 4×10^5 Zellen/ml
------------------------	---------------------------------

Fluid renewal	Alle 2 bis 3 Tage
----------------------	-------------------

Toledo-Zellen | 305351

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Toledo-Zellen | 305351

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.