

Κύτταρα του Τολέδο | 305351

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά Toledo είναι μια κυτταρική σειρά διάχυτου λεμφώματος μεγάλων B-κυττάρων (DLBCL), η οποία δημιουργήθηκε αρχικά από το περιφερικό αίμα ενός ασθενούς με DLBCL, ο οποίος αργότερα ανέπτυξε δευτερογενές λέμφωμα στον εγκέφαλο μετά από χημειοθεραπεία υψηλής δόσης και μεταμόσχευση μυελού των οστών. Αυτή η κυτταρική σειρά παρουσιάζει έναν σύνθετο καρυότυπο με πολλαπλές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, αλλά δεν φέρει τις τυπικές μετατοπίσεις που σχετίζονται με το λέμφωμα του Burkitt.

Ένα από τα μοναδικά χαρακτηριστικά της κυτταρικής σειράς Toledo είναι η απουσία έκφρασης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης (Ig), ενώ επίσης δεν διαθέτει ανιχνεύσιμα γονιδιακά τμήματα της σταθερής (C) περιοχής. Παρά ταύτα, η Toledo διατηρεί την ικανότητα να υφίσταται σωματική υπερμετάλλαξη στα μεταβλητά (V) γονιδιακά τμήματά της, ένα φαινόμενο που παρατηρείται συνήθως στα B-κύτταρα των γεννητικών κέντρων. Είναι ενδιαφέρον ότι η Toledo συσσωρεύει ενδοκλωνικές μεταλλάξεις με υψηλότερη συχνότητα σε σύγκριση με άλλες κυτταρικές σειρές λεμφώματος, όπως οι Daudi και Raji, παρά την απουσία σημαντικών κλωνικών μεταλλάξεων. Αυτό υποδηλώνει ότι η διαδικασία της μετάλλαξης ενδέχεται να συνεχίστηκε in vitro μετά τη μετασχηματισμό, προσφέροντας ενδεχομένως ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών της σωματικής υπερμετάλλαξης.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Περιφερικό αίμα

Disease

Διάχυτο λέμφωμα μεγάλων B-κυττάρων τύπου B-κυττάρων βλαστικού κέντρου

Applications

3D καλλιέργεια κυττάρων, Ανοσολογία

Synonyms

ΤΟΛΕΔΟ

Χαρακτηριστικά

Age

Ενηλίκων

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Κauκάσιος

Morphology

Λεμφοβλάστες

Growth properties

Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα του Τολέδο | 305351

Citation Τολέδο (αριθμός καταλόγου Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-**Viruses** EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -**Mutational profile** Μετάλλαξη: KRAS, απλή, p.Gly13Asp (c.38G>A), ετερόζυγη· Μετάλλαξη: TP53, απλή, p.Glu198fs (c.592_596del5), μη προσδιορισμένη

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Κανένα**Doubling time** 50 ώρες**Subculturing** Διατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα 5×10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 3×10^5 έως 1×10^6 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.**Seeding density** 2 έως 4×10^5 κύτταρα/ml**Fluid renewal** Κάθε 2 έως 3 ημέρες

Κύτταρα του Τολέδο | 305351**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα του Τολέδο | 305351

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.