

Toledo rakud | 305351

Üldine teave

Description

Toledo rakuliin on difuusne suurte B-rakkude lümfoomi (DLBCL) rakuliin, mis loodi algselt DLBCL-i põdeva patsiendi perifeersest verest, kellel tekkis hiljem pärast suure annusega keemiaravi ja luuüdi siirdamist sekundaarne lümfoom ajus. Sellel rakuliinil on keerukas kariotüüp, milles esineb mitmeid kromosoomianomaaliaid, kuid sellel puuduvad Burkitti lümfoomiga seotud tüüpilised translokatsioonid.

Toledo rakuliini üks unikaalne omadus on immunoglobuliini (Ig) polüpeptiidahela ekspressiooni puudumine ning samuti puuduvad sellel tuvastatavad konstantse (C) piirkonna geenisegmendid. Sellest hoolimata säilitab Toledo võime läbida somaatilist hüpermutatsiooni oma muutuvates (V) geenisegmentides – nähtus, mida tavaliselt täheldatakse germinaalkeskuse B-rakkudes. Huvitaval kombel kogunevad Toledos intrakloonaalsed mutatsioonid sagedamini kui teistes lümfoomi rakuliinides, nagu Daudi ja Raji, hoolimata märkimisväärsete kloonaaletsete mutatsioonide puudumisest. See viitab sellele, et mutatsiooniprotsess võis pärast transformatsiooni in vitro jätkuda, pakkudes potentsiaalselt väärtuslikku mudelit somaatilise hüpermutatsiooni molekulaarsete mehhanismide uurimiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Perifeerne veri

Disease

Hajus suur B-rakkude lümfoomi idukeskuse B-rakkude tüüp

Applications

3D rakukultuur, immunoloogia

Synonyms

TOLEDO

Omadused

Age

Täiskasvanud

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Lümfoblastid

Growth properties

Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation

Toledo (Cytioni katalooginumber 305351)

Toledo rakud | 305351

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3611

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-

Viruses EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -, SMRV -

Mutational profile Mutatsioon: KRAS, lihtne, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterosügootne; Mutatsioon: TP53, lihtne, p.Glu198fs (c.592_596del5), täpsustamata

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Puudub

Doubling time 50 tundi

Subculturing Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.Seeding density $2-4 \times 10^5$ rakku/ml

Fluid renewal Iga 2 kuni 3 päeva tagant

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Toledo rakud | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Toledo rakud | 305351

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.