Product sheet

Toledon solut | 305351

Yleisiä tietoja

Description	Toledo-solulinja on diffuusi suurisoluinen B-solulymfooma (DLBCL) -solulinja, joka perustettiin alun perin DLBCL-potilaan ääreisverestä; potilaalle kehittyi myöhemmin sekundaarinen lymfooma aivoissa suuriannoksisen kemoterapian ja luuydinsiirron jälkeen. Tällä solulinjalla on monimutkainen karyotyyppi, jossa esiintyy useita kromosomipoikkeavuuksia, mutta sillä ei ole Burkittin lymfoomaan tyypillisiä translokaatioita. Yksi Toledo-solulinjan ainutlaatuisista ominaisuuksista on immunoglobuliinin (Ig) polypeptidiketjun ilmentymisen puuttuminen, eikä siinä myöskään ole havaittavissa olevia vakioalueen (C) geenisegmenttejä. Tästä huolimatta Toledolla on edelleen kyky käydä läpi somaattista hypermutaatiota vaihtelevissa (V) geenisegmenteissään, ilmiö, jota tyypillisesti havaitaan germinaalikeskuksen B-soluissa. Mielenkiintoista on, että Toledossa kertyy intrakloonaalisia mutaatioita suuremmalla taajuudella kuin muissa lymfoomasolulinjoissa, kuten Daudissa ja Rajissa, huolimatta merkittävien kloonaalisten mutaatioiden puuttumisesta. Tämä viittaa siihen, että mutaatioprosessi on saattanut jatkua in vitro transformaation jälkeen, mikä tarjoaa mahdollisesti arvokkaan mallin somaattisen hypermutaation molekyylimekanismien tutkimiseen.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Diffuusi suurisoluinen B-solulymfooma itukeskuksen B-solutyyppi
Applications	3D-soluviljely, Immunologia
Synonyms	TOLEDO

Ominaisuudet

Age	Aikuiset
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Lymfoblastit
Growth properties	Jousitus

Sääntelytiedot

Citation	Toledo (Cytion-tuotenumero 305351)

Toledon solut | 305351

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Ei mitään
Doubling time	50 tuntia
Subculturing	Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5 x 10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä 3 x 10^5 – 1 x 10^6 solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.
Seeding density	2–4 × 10^5 solua/ml
Fluid renewal	2-3 päivän välein
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Toledon solut | 305351

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Toledon solut | 305351

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.