

Cellules de Toledo | 305351

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Toledo est une lignée issue d'un lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) qui a été initialement établie à partir du sang périphérique d'un patient atteint d'un LDGCB et qui a par la suite développé un lymphome secondaire au niveau du cerveau à la suite d'une chimiothérapie à forte dose et d'une greffe de moelle osseuse. Cette lignée cellulaire présente un caryotype complexe comportant de multiples aberrations chromosomiques, mais ne possède pas les translocations typiques associées au lymphome de Burkitt.

L'une des caractéristiques uniques de la lignée cellulaire Toledo est l'absence d'expression des chaînes polypeptidiques des immunoglobulines (Ig) ; elle ne présente pas non plus de segments génétiques détectables de la région constante (C). Malgré cela, Toledo conserve la capacité de subir une hypermutation somatique au niveau de ses segments de gènes variables (V), un phénomène généralement observé dans les lymphocytes B des centres germinatifs. Il est intéressant de noter que Toledo accumule des mutations intraclonales à une fréquence plus élevée que d'autres lignées cellulaires de lymphomes telles que Daudi et Raji, malgré l'absence de mutations clonales significatives. Cela suggère que le processus de mutation a pu se poursuivre in vitro après la transformation, offrant potentiellement un modèle précieux pour l'étude des mécanismes moléculaires de l'hypermutation somatique.

Organism

Humain

Tissue

Sang périphérique

Disease

Lymphome diffus à grandes cellules B à centre germinatif de type B

Applications

culture cellulaire 3D, Immunologie

Synonyms

TOLEDO

Caractéristiques

Age

Adulte

Gender

Femme

Ethnicity

Caucasien

Morphology

Lymphoblaste

Growth properties

Suspension

Données réglementaires

Cellules de Toledo | 305351

Citation Toledo (référence Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611

Données biomoléculaires

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, simple, p.Gly13Asp (c.38G>A), hétérozygote ; Mutation : TP53, simple, p.Glu198fs (c.592_596del5), non précisée

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Aucun**Doubling time** 50 heures**Subculturing** Entretenez les cultures en ajoutant ou en remplaçant périodiquement le milieu. Démarrez les cultures avec une densité de 5×10^5 cellules/ml et maintenez la concentration cellulaire dans une fourchette comprise entre 3×10^5 et 1×10^6 cellules/ml pour une croissance optimale.**Seeding density** 2 à 4×10^5 cellules/ml**Fluid renewal** Tous les 2 ou 3 jours

Cellules de Toledo | 305351

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules de Toledo | 305351

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.