

Toledo-sejtek | 305351

Általános információk

Description

A Toledo sejtvonal egy diffúz nagy B-sejtes limfóma (DLBCL) sejtvonal, amelyet eredetileg egy DLBCL-ben szenvedő beteg perifériás véréből állítottak elő; a betegnél később, nagy dózisu kemoterápia és csontvelő-átültetés után másodlagos agyi limfóma alakult ki. Ez a sejtvonal összetett kariotípust mutat, amelyben számos kromoszómális aberráció figyelhető meg, azonban nem rendelkezik a Burkitt-limfómához kapcsolódó tipikus transzlokációkkal.

A Toledo sejtvonal egyik egyedülálló jellemzője az immunglobulin (Ig) polipeptidlánc expressziójának hiánya, valamint az is, hogy nem rendelkezik kimutatható konstans (C) régió génszégmensekkel. Ennek ellenére a Toledo megőrzi azt a képességét, hogy változó (V) génszégmenseiben szomatikus hipermutáción menjen keresztül, ami egy olyan jelenség, amelyet jellemzően a germinális központ B-sejtjeiben figyelnek meg. Érdekes módon a Toledo jelentősebb klonális mutációk hiánya ellenére is nagyobb gyakorisággal halmoz fel intraklonális mutációkat, mint más limfóma-sejtvonalak, például a Daudi és a Raji. Ez arra utal, hogy a mutációs folyamat a transzformációt követően in vitro is folytatódhatott, ami potenciálisan értékes modellt jelenthet a szomatikus hipermutáció molekuláris mechanizmusainak tanulmányozásához.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

Diffúz nagy B-sejtes limfóma csíráközpontú B-sejtes típus

Applications

3D sejtkultúra, immunológia

Synonyms

TOLEDO

Jellemzők

Age

Felnőtt

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Limfoblasztok

Growth properties

Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Toledo-sejtek | 305351

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

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Nincs**Doubling time** 50 óra**Subculturing** A tenyészeteket a táptalaj rendszeres hozzáadásával vagy cseréjével tartsa fenn. A tenyészeteket 5×10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 3×10^5 és 1×10^6 sejt/ml közötti tartományban.**Seeding density** $2-4 \times 10^5$ sejt/ml**Fluid renewal** 2-3 naponta

Toledo-sejtek | 305351

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuspenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Toledo-sejtek | 305351

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.