Product sheet

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 dózisú 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 génszegmensekkel. Ennek ellenére a Toledo megőrzi azt a képességét, hogy változó (V) génszegmenseiben 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 csíraközpontú 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 x 10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 3 x 10^5 és 1 x 10^6 sejt/ml közötti tartományban.
Seeding density	2–4 × 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 fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal. 5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz. 6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x 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% $_{CO2}$, párásított 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.

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.