

Cellule di Toledo | 305351

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Toledo è una linea cellulare derivata da un linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL), originariamente isolata dal sangue periferico di un paziente affetto da DLBCL che, in seguito a chemioterapia ad alte dosi e trapianto di midollo osseo, ha sviluppato un linfoma secondario a livello cerebrale. Questa linea cellulare presenta un cariotipo complesso con molteplici aberrazioni cromosomiche, ma non possiede le traslocazioni tipiche associate al linfoma di Burkitt.

Una delle caratteristiche uniche della linea cellulare Toledo è la mancanza di espressione delle catene polipeptidiche delle immunoglobuline (Ig); inoltre, non presenta segmenti genici rilevabili della regione costante (C). Nonostante ciò, Toledo conserva la capacità di subire ipermutazione somatica nei propri segmenti genici variabili (V), un fenomeno tipicamente osservato nelle cellule B dei centri germinativi. È interessante notare che Toledo accumula mutazioni intraclonali con una frequenza maggiore rispetto ad altre linee cellulari di linfoma, quali Daudi e Raji, nonostante l'assenza di mutazioni clonali significative. Ciò suggerisce che il processo mutazionale possa essere proseguito in vitro dopo la trasformazione, offrendo potenzialmente un modello prezioso per lo studio dei meccanismi molecolari dell'ipermutazione somatica.

Organism

Umano

Tissue

Sangue periferico

Disease

Linfoma diffuso a grandi cellule B di tipo centro germinativo

Applications

coltura cellulare 3D, Immunologia

Synonyms

TOLEDO

Caratteristiche

Age

Adulti

Gender

Donna

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Linfoblasto

Growth properties

Sospensione

Dati normativi

Cellule di Toledo | 305351

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

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Nessuno**Doubling time** 50 ore**Subculturing** Mantenere le colture aggiungendo o sostituendo periodicamente il terreno. Avviare le colture con una densità di 5×10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra 3×10^5 e 1×10^6 cellule/ml per una crescita ottimale.**Seeding density** da 2 a 4×10^5 cellule/ml**Fluid renewal** Ogni 2 o 3 giorni**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule di Toledo | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Cellule di Toledo | 305351

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.