

Toledo ląstelės | 305351

Bendra informacija

Description

Toledo ląstelių linija yra difuzinės didelių B ląstelių limfomos (DLBCL) ląstelių linija, kuri iš pradžių buvo išskirta iš DLBCL sergančio paciento periferinio kraujo; vėliau, po didelės dozės chemoterapijos ir kaulų čiulpų transplantacijos, šiam pacientui smegenyse išsivystė antrinė limfoma. Ši ląstelių linija pasižymi sudėtingu kariotipu su daugybe chromosomų aberacijų, tačiau neturi tipinių translokacijų, susijusių su Burkitto limfoma.

Viena iš unikalių Toledo ląstelių linijos savybių – imunoglobulino (Ig) polipeptidinės grandinės ekspresijos nebuvimas, taip pat joje nėra aptinkamų pastoviosios (C) srities genų segmentų. Nepaisant to, „Toledo“ išlaiko gebėjimą patirti somatinę hipermutaciją savo kintamuosiuose (V) genų segmentuose – reiškinį, paprastai stebimą germinalinių centrų B ląstelėse. Įdomu tai, kad „Toledo“ linija kaupia intraklonines mutacijas dažniau nei kitos limfomos ląstelių linijos, pavyzdžiui, „Daudi“ ir „Raji“, nepaisant to, kad joje nėra reikšmingų kloninių mutacijų. Tai leidžia manyti, kad mutacijų procesas galėjo tęstis in vitro po transformacijos, o tai potencialiai suteikia vertingą modelį somatinės hipermutacijos molekulinį mechanizmų tyrimams.

Organism

Žmogus

Tissue

Periferinis kraujas

Disease

Difuzinė stambųjų B ląstelių limfoma germinacinio centro B ląstelių tipas

Applications

3D ląstelių kultūra, Imunologija

Synonyms

TOLEDO

Charakteristikos

Age

Suaugusiųjų

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Limfoblastai

Growth properties

Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation

Toledo (Cytion katalogo numeris 305351)

Toledo ląstelės | 305351

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3611

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-

Viruses EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -

Mutational profile Mutacija: KRAS, paprasta, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterozigotinė; Mutacija: TP53, paprasta, p.Glu198fs (c.592_596del5), nenurodyta

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Nėra

Doubling time 50 valandų

Subculturing Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su 5×10^5 ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo 3×10^5 iki 1×10^6 ląstelių/ml.Seeding density $2-4 \times 10^5$ ląstelių/ml

Fluid renewal Kas 2-3 dienas

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Toledo ląstelės | 305351**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Toledo ląstelės | 305351

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.