Product sheet

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 molekulinių mechanizmų tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Periferinis kraujas
Disease	Difuzinė stambiųjų 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 x 10^5 ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo 3 x 10^5 iki 1 x 10^6 ląstelių/ml.
Seeding density	2–4 × 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 švariu 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 x 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 perkelkite 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 % $_{CO2}$, 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 perkelkite 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 perkeliant 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.