

Toledo šūnas | 305351

Vispārīga informācija

Description

Toledo šūnu līnija ir difūzās lielu B šūnu limfomas (DLBCL) šūnu līnija, kas sākotnēji tika izveidota no DLBCL pacienta perifērās asins, kuram vēlāk pēc augstas devas ķīmijterapijas un kaulu smadzeņu transplantācijas attīstījās sekundāra limfoma smadzenēs. Šai šūnu līnijai ir sarežģīts kariotips ar daudzām hromosomu aberācijām, taču tai nav raksturīgo translokāciju, kas saistītas ar Burkita limfomu.

Viena no Toledo šūnu līnijas unikālajām īpašībām ir imūnglobulīna (Ig) polipeptīda ķēdes ekspresijas trūkums, kā arī nav konstatējami konstanto (C) reģiona gēnu segmenti. Neskatoties uz to, Toledo saglabā spēju veikt somatisko hipermutāciju savos mainīgajos (V) gēnu segmentos — parādība, kas parasti novērojama germinālo centru B šūnās. Interesanti, ka Toledo uzkrāj intraklonālās mutācijas biežāk nekā citas limfomas šūnu līnijas, piemēram, Daudi un Raji, neskatoties uz to, ka tajā nav novērojamas nozīmīgas klonālās mutācijas. Tas liecina, ka mutāciju process, iespējams, ir turpinājies in vitro pēc transformācijas, tādējādi potenciāli piedāvājot vērtīgu modeli somatiskās hipermutācijas molekulāro mehānismu izpētei.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Difūza lielo B šūnu limfoma dīgļšūnu centra B šūnu tips

Applications

3D šūnu kultūras, Imunoloģija

Synonyms

TOLEDO

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Limfoblasts

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation

Toledo (Cytion kataloga numurs 305351)

Toledo šūnas | 305351

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Neviens
Doubling time	50 stundas
Subculturing	Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 1×10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.
Seeding density	2 līdz 4×10^5 šūnu/ml
Fluid renewal	Ik pēc 2 līdz 3 dienām
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Toledo šūnas | 305351

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Toledo šūnas | 305351

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.