

Toledo-cellen | 305351

Algemene informatie

Description

De Toledo-cel lijn is een cel lijn van het diffuse grootcellig B-cellymfoom (DLBCL) die oorspronkelijk is geïsoleerd uit het perifere bloed van een patiënt met DLBCL, die later, na hooggedoseerde chemotherapie en beenmergtransplantatie, een secundair lymfoom in de hersenen ontwikkelde. Deze cel lijn vertoont een complex karyotype met meerdere chromosomale afwijkingen, maar bezit niet de typische translocaties die geassocieerd worden met het Burkitt-lymfoom.

Een van de unieke kenmerken van de Toledo-cel lijn is het ontbreken van expressie van immunoglobuline (Ig)-polypeptideketens, en er zijn ook geen detecteerbare gensegmenten in het constante (C)-gebied aanwezig. Desondanks behoudt Toledo het vermogen om somatische hypermutatie te ondergaan in zijn variabele (V)-gensegmenten, een fenomeen dat doorgaans wordt waargenomen in B-cellen van het kiemcentrum. Opmerkelijk genoeg accumuleert Toledo intraclonale mutaties met een hogere frequentie dan andere lymfoomcel lijnen zoals Daudi en Raji, ondanks de afwezigheid van significante klonale mutaties. Dit suggereert dat het mutatieproces zich in vitro na transformatie mogelijk heeft voortgezet, wat mogelijk een waardevol model biedt voor het bestuderen van de moleculaire mechanismen van somatische hypermutatie.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Diffuus groot B-cel lymfoom kiemcentrum B-celtype

Applications

3D celweek, Immunologie

Synonyms

TOLEDO

Kenmerken

Age

Volwassen

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Ophanging

Regelgevende gegevens

Toledo-cellen | 305351

Citation	Toledo (Cytion-catalogusnummer 305351)
----------	--

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3611
----------------------	-----------

Biomoleculaire gegevens

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

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

Mutational profile	Mutatie: KRAS, eenvoudig, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterozygoot; Mutatie: TP53, eenvoudig, p.Glu198fs (c.592_596del5), niet gespecificeerd
--------------------	---

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
----------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
-------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Geen
----------------------	------

Doubling time	50 uur
---------------	--------

Subculturing	Onderhoud de culturen door het medium periodiek toe te voegen of te vervangen. Start de culturen met een dichtheid van 5×10^5 cellen/ml en houd de celconcentratie binnen het bereik van 3×10^5 tot 1×10^6 cellen/ml voor een optimale groei.
--------------	--

Seeding density	2 tot 4×10^5 cellen/ml
-----------------	---------------------------------

Fluid renewal	Om de 2 tot 3 dagen
---------------	---------------------

Toledo-cellen | 305351

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Toledo-cellen | 305351

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.