

Toledo-celler | 305351

Generell informasjon

Description

Toledo-cellelinjen er en cellelinje for diffust storcellet B-celle-lymfom (DLBCL) som opprinnelig ble etablert fra perifert blod fra en pasient med DLBCL, som senere utviklet et sekundært lymfom i hjernen etter høydose kjemoterapi og benmargstransplantasjon. Denne cellelinjen har et komplekst karyotype med flere kromosomavvik, men har ikke de typiske translokasjonene som er forbundet med Burkitts lymfom.

Et av de unike kjennetegnene ved Toledo-cellelinjen er mangelen på ekspresjon av immunoglobulin (Ig)-polypeptidkjeder, og den mangler også påvisbare gensegmenter i den konstante (C) regionen. Til tross for dette beholder Toledo evnen til å gjennomgå somatisk hypermutasjon i sine variable (V) gensegmenter, et fenomen som vanligvis observeres i B-celler i germinalsenteret. Interessant nok akkumulerer Toledo intraklonale mutasjoner med høyere frekvens enn andre lymfomcellelinjer som Daudi og Raji, til tross for fraværet av signifikante klonale mutasjoner. Dette tyder på at mutasjonsprosessen kan ha fortsatt in vitro etter transformasjonen, noe som potensielt gir en verdifull modell for å studere de molekylære mekanismene bak somatisk hypermutasjon.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Diffust storcellet B-celle-lymfom av typen germinalsenter-B-celle

Applications

3D-cellekultur, Immunologi

Synonyms

TOLEDO

Kjennetegn

Age

Voksen

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

Citation

Toledo (Cytion-katalognummer 305351)

Toledo-celler | 305351

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Ingen
Doubling time	50 timer
Subculturing	Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.
Seeding density	2 til 4×10^5 celler/ml
Fluid renewal	Hver 2. til 3. dag
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Toledo-celler | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse

Toledo-celler | 305351

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.