

Komórki Toledo | 305351**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Toledo to linia komórkowa rozlanego chłoniaka wielkomórkowego typu B (DLBCL), która została pierwotnie wyhodowana z krwi obwodowej pacjenta z DLBCL, u którego później, po chemioterapii wysokodawkowej i przeszczepie szpiku kostnego, rozwinął się wtórny chłoniak w mózgu. Linia ta wykazuje złożony kariotyp z licznymi aberracjami chromosomowymi, ale nie posiada typowych translokacji związanych z chłoniakiem Burkitta.

Jedną z unikalnych cech linii komórkowej Toledo jest brak ekspresji łańcuchów polipeptydowych immunoglobulin (Ig), a także brak wykrywalnych segmentów genów regionu stałego (C). Mimo to linia Toledo zachowuje zdolność do hipermutacji somatycznej w segmentach genów zmiennych (V) – zjawisko to obserwuje się zazwyczaj w komórkach B ośrodków germinacyjnych. Co ciekawe, linia Toledo gromadzi mutacje wewnątrzklonalne z większą częstotliwością niż inne linie komórkowe chłoniaków, takie jak Daudi i Raji, pomimo braku znaczących mutacji klonalnych. Sugeruje to, że proces mutacji mógł trwać in vitro po transformacji, potencjalnie stanowiąc cenny model do badania molekularnych mechanizmów hipermutacji somatycznej.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Disease

Chłoniak rozlany z dużych komórek B typu zarodkowego z komórek B

Applications

hodowla komórek 3D, Immunologia

Synonyms

TOLEDO

Charakterystyka**Age**

Dorosły

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Limfoblast

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne

Komórki Toledo | 305351

Citation Toledo (numer katalogowy Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Brak**Doubling time** 50 godzin**Subculturing** Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.**Seeding density** od 2 do 4×10^5 komórek/ml**Fluid renewal** Co 2 do 3 dni

Komórki Toledo | 305351

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Toledo | 305351

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.