

Células de Toledo | 305351**Informações gerais****Description**

A linha celular Toledo é uma linha celular de linfoma difuso de grandes células B (DLBCL) que foi originalmente isolada a partir do sangue periférico de um doente com DLBCL, que posteriormente desenvolveu um linfoma secundário no cérebro na sequência de quimioterapia de alta dose e transplante de medula óssea. Esta linha celular apresenta um cariótipo complexo com múltiplas aberrações cromossômicas, mas não possui as translocações típicas associadas ao linfoma de Burkitt.

Uma das características únicas da linha celular Toledo é a ausência de expressão da cadeia polipeptídica da imunoglobulina (Ig), além de não apresentar segmentos genéticos detetáveis da região constante (C). Apesar disso, a Toledo mantém a capacidade de sofrer hipermutação somática nos seus segmentos do gene variável (V), um fenómeno tipicamente observado nas células B do centro germinativo. Curiosamente, a Toledo acumula mutações intraclonais com uma frequência superior à de outras linhas celulares de linfoma, como a Daudi e a Raji, apesar da ausência de mutações clonais significativas. Isto sugere que o processo de mutação pode ter continuado in vitro após a transformação, oferecendo potencialmente um modelo valioso para o estudo dos mecanismos moleculares da hipermutação somática.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Linfoma difuso de grandes células B tipo centro germinal de células B

Applications

cultura de células 3D, Imunologia

Synonyms

TOLEDO

Caraterísticas**Age**

Adulto

Gender

Feminino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

Linfoblasto

Growth properties

Suspensão

Dados regulamentares

Células de Toledo | 305351**Citation** Toledo (número de catálogo da Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611**Dados biomoleculares****Antigen expression** CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-**Viruses** EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -**Mutational profile** Mutação: KRAS, simples, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterozigótica; Mutação: TP53, simples, p.Glu198fs (c.592_596del5), não especificada**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Nenhum**Doubling time** 50 horas**Subculturing** Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 5×10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 3×10^5 a 1×10^6 células/ml para um crescimento ideal.**Seeding density** $2 \text{ a } 4 \times 10^5$ células/ml**Fluid renewal** A cada 2 ou 3 dias

Células de Toledo | 305351

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células de Toledo | 305351

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.