Product sheet

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 cromossómicas, 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 x 10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 3 x 10^5 a 1 x 10^6 células/ml para um crescimento ideal.
Seeding density	2 a 4 × 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 optimizados 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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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%$_{CO2}$, 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.

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 inspecções visuais diárias.