

Celulele Toledo | 305351

Informații generale

Description

Linia celulară Toledo este o linie celulară de limfom difuz cu celule B mari (DLBCL), care a fost inițial izolată din sângele periferic al unui pacient cu DLBCL, care a dezvoltat ulterior un limfom secundar la nivelul creierului, în urma unei chimioterapii cu doze mari și a unui transplant de măduvă osoasă. Această linie celulară prezintă un cariotip complex, cu multiple aberații cromozomiale, dar nu prezintă translocările tipice asociate cu limfomul Burkitt.

Una dintre caracteristicile unice ale liniei celulare Toledo este lipsa expresiei lanțului polipeptidic al imunoglobulinei (Ig), precum și lipsa segmentelor genice detectabile din regiunea constantă (C). În ciuda acestui fapt, Toledo își păstrează capacitatea de a suferi hipermutații somatice în segmentele genice variabile (V), un fenomen observat de obicei în celulele B din centrul germinativ. În mod curios, Toledo acumulează mutații intraclonale la o frecvență mai mare decât alte linii celulare de limfom, precum Daudi și Raji, în ciuda absenței mutațiilor clonale semnificative. Acest lucru sugerează că procesul de mutație ar fi putut continua in vitro după transformare, oferind potențial un model valoros pentru studierea mecanismelor moleculare ale hipermutației somatice.

Organism

Om

Tissue

Sânge periferic

Disease

Limfom difuz cu celule B mari tip centru germinal cu celule B

Applications

cultură celulară 3D, Imunologie

Synonyms

TOLEDO

Caracteristici

Age

Adult

Gender

Femei

Ethnicity

Caucasian

Morphology

Limfoblast

Growth properties

Suspensie

Date de reglementare

Celulele Toledo | 305351

Citation	Toledo (număr de catalog Cytion 305351)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Niciuna
Doubling time	50 de ore
Subculturing	Mențineți culturile adăugând sau înlocuind periodic mediul. Inițiați culturile cu o densitate de 5×10^5 celule/ml și mențineți concentrația celulară în intervalul 3×10^5 până la 1×10^6 celule/ml pentru o creștere optimă.
Seeding density	$2-4 \times 10^5$ celule/ml
Fluid renewal	La fiecare 2 sau 3 zile
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celulele Toledo | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Celulele Toledo | 305351

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.