

Toledo-celler | 305351

Allmän information

Description

Toledo-cellinjen är en cellinje av typen diffust storcelligt B-cellslymfom (DLBCL) som ursprungligen etablerades från perifert blod hos en patient med DLBCL, vilken senare utvecklade ett sekundärt lymfom i hjärnan efter högdoskemoterapi och benmärgstransplantation. Denna cellinje uppvisar en komplex karyotyp med flera kromosomavvikelser men saknar de typiska translokationer som är förknippade med Burkitts lymfom.

Ett av de unika kännetecknen för Toledo-cellinjen är avsaknaden av uttryck av immunoglobulin (Ig)-polypeptidkedjor, och den saknar även detekterbara gensegment i den konstanta (C)-regionen. Trots detta behåller Toledo förmågan att genomgå somatisk hypermutation i sina variabla (V) gensegment, ett fenomen som vanligtvis observeras i B-celler i germinalcentra. Intressant nog ackumulerar Toledo intraklonala mutationer med högre frekvens än andra lymfomcellinjer, såsom Daudi och Raji, trots avsaknaden av signifikanta klonala mutationer. Detta tyder på att mutationsprocessen kan ha fortsatt in vitro efter transformationen, vilket potentiellt erbjuder en värdefull modell för att studera de molekylära mekanismerna bakom somatisk hypermutation.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Disease

Diffust storcelligt B-cellslymfom av typen germinal center B-cell

Applications

3D-cellodling, Immunologi

Synonyms

TOLEDO

Egenskaper

Age

Vuxen

Gender

Kvinna

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Avstängning

Lagstadgade uppgifter

Citation

Toledo (Cytion-katalognummer 305351)

Toledo-celler | 305351

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Biomolekylära data

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

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Ingen
Doubling time	50 timmar
Subculturing	Underhåll odlingarna genom att regelbundet tillsätta eller byta ut odlingsmediet. Starta odlingarna med en densitet på 5×10^5 celler/ml och håll cellkoncentrationen inom intervallet 3×10^5 till 1×10^6 celler/ml för optimal tillväxt.
Seeding density	2 till 4×10^5 celler/ml
Fluid renewal	Var 2:a till 3:e dag
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Toledo-celler | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys

Toledo-celler | 305351

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.