

Toledské bunky | 305351

Všeobecné informácie

Description

Bunka Toledo je bunková línia difúzneho veľkobunkového B-bunkového lymfómu (DLBCL), ktorá bola pôvodne izolovaná z periférnej krvi pacienta s DLBCL, u ktorého sa neskôr po vysokodávkovej chemoterapii a transplantácii kostnej drene vyvinul sekundárny lymfóm v mozgu. Táto bunková línia vykazuje komplexný karyotyp s viacerými chromozómovými aberáciami, ale nevykazuje typické translokácie spojené s Burkittovým lymfómom.

Jednou z jedinečných charakteristík bunkovej línie Toledo je absencia expresie polypeptidového reťazca imunoglobulínu (Ig) a chýbajú jej aj detekovateľné génové segmenty konštantnej (C) oblasti. Napriek tomu si Toledo zachováva schopnosť podliehať somatickej hypermutácii vo svojich variabilných (V) génových segmentoch, čo je jav typicky pozorovaný v B-bunkách germinálnych centier. Zaujímavé je, že Toledo akumuluje intraklonálne mutácie s vyššou frekvenciou ako iné lymfómové bunkové línie, napríklad Daudi a Raji, napriek absencii významných klonálnych mutácií. To naznačuje, že mutačný proces mohol pokračovať in vitro po transformácii, čo potenciálne ponúka cenný model na štúdium molekulárnych mechanizmov somatickej hypermutácie.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

Difúzny veľkobunkový B-lymfóm typu B-buniek germinálneho centra

Applications

3D bunkové kultúry, imunológia

Synonyms

TOLEDO

Charakteristika

Age

Dospelí

Gender

Ženy

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Pozastavenie

Regulačné údaje

Toledské bunky | 305351

Citation Toledo (katalógové číslo Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Žiadne**Doubling time** 50 hodín**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou 5×10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržiavajte koncentráciu buniek v rozmedzí 3×10^5 až 1×10^6 buniek/ml.**Seeding density** $2 \text{ až } 4 \times 10^5$ buniek/ml**Fluid renewal** Každé 2 až 3 dni**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Toledské bunky | 305351

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Toledské bunky | 305351

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.