

Клітини «Толедо» | 305351

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія «Толедо» — це клітинна лінія дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми (DLBCL), яка була спочатку отримана з периферичної крові пацієнта з DLBCL, у якого пізніше, після високодозової хіміотерапії та трансплантації кісткового мозку, розвинулася вторинна лімфома головного мозку. Ця клітинна лінія має складний каріотип із численними хромосомними абераціями, але не має типових транслокацій, пов'язаних із лімфомою Беркитта.

Однією з унікальних характеристик клітинної лінії «Толедо» є відсутність експресії поліпептидних ланцюгів імуноглобуліну (Ig), а також відсутність виявляємих сегментів генів постійної (C) області. Незважаючи на це, «Toledo» зберігає здатність до соматичної гіпермутації у своїх варіабельних (V) сегментах генів — явища, яке зазвичай спостерігається у В-клітинах зародкових центрів. Цікаво, що «Toledo» накопичує внутрішньоклональні мутації з вищою частотою, ніж інші клітинні лінії лімфоми, такі як «Daudi» та «Raji», незважаючи на відсутність значних клональних мутацій. Це свідчить про те, що процес мутації, ймовірно, продовжувався in vitro після трансформації, що потенційно надає цінну модель для вивчення молекулярних механізмів соматичної гіпермутації.

Organism

Людина

Tissue

Периферична кров

Disease

Дифузна велика В-клітинна лімфома з зародковим центром В-клітинного типу

Applications

3D-культура клітин, Імунологія

Synonyms

ТОЛЕДО

Характеристики

Age

Дорослий

Gender

Жінка

Ethnicity

Кавказець

Morphology

Лімфобласт

Growth properties

Підвіска

Нормативні дані

Клітини «Толедо» | 305351

Citation Толедо (номер у каталозі Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611

Біомолекулярні дані

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

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Ні**Doubling time** 50 годин**Subculturing** Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 5×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 3×10^5 до 1×10^6 клітин/мл для оптимального росту.**Seeding density** від 2 до 4×10^5 клітин/мл**Fluid renewal** Кожні 2-3 дні

Клітини «Тоledo» | 305351

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини «Тоledo» | 305351

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.