Product sheet

Cellules de Toledo | 305351

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire Toledo est une lignée issue d'un lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) qui a été initialement établie à partir du sang périphérique d'un patient atteint d'un LDGCB et qui a par la suite développé un lymphome secondaire au niveau du cerveau à la suite d'une chimiothérapie à forte dose et d'une greffe de moelle osseuse. Cette lignée cellulaire présente un caryotype complexe comportant de multiples aberrations chromosomiques, mais ne possède pas les translocations typiques associées au lymphome de Burkitt. L'une des caractéristiques uniques de la lignée cellulaire Toledo est l'absence d'expression des chaînes polypeptidiques d'immunoglobulines (Ig); elle ne présente pas non plus de segments génétiques détectables de la région constante (C). Malgré cela, Toledo conserve la capacité de subir une hypermutation somatique dans ses segments de gènes variables (V), un phénomène généralement observé dans les cellules B des centres germinatifs. Fait intrigant, Toledo accumule des mutations intraclonales à une fréquence plus élevée que d'autres lignées cellulaires de lymphomes telles que Daudi et Raji, malgré l'absence de mutations clonales significatives. Cela suggère que le processus de mutation pourrait s'être poursuivi in vitro après la transformation, offrant potentiellement un modèle précieux pour l'étude des mécanismes moléculaires de l'hypermutation somatique.
Organism	Humain
Tissue	Sang périphérique
Disease	Lymphome diffus à grandes cellules B de type « cellules B du centre germinatif »
Applications	Culture cellulaire en 3D, immunologie
Synonyms	TOLEDO

Caractéristiques

Age	Adulte
Gender	Femme
Ethnicity	caucasien
Morphology	Lymphoblaste
Growth properties	Suspension

Données réglementaires

Cellules de Toledo | 305351

Citation	Toledo (numéro de catalogue Cytion 305351)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3611

Données biomoléculaires

Antigen expression	CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-
Viruses	EBV -, VHB -, VHC -, VIH-1 -, VIH-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -
Mutational profile	Mutation : KRAS, simple, p.Gly13Asp (c.38G>A), hétérozygote; Mutation : TP53, simple, p.Glu198fs (c.592_596del5), non précisée

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Aucun
Doubling time	50 heures
Subculturing	Entretenir les cultures en ajoutant ou en remplaçant périodiquement le milieu de culture. Démarrer les cultures à une densité de 5×10^5 cellules/ml et maintenir la concentration cellulaire dans une fourchette comprise entre 3×10^5 et 1×10^6 cellules/ml pour une croissance optimale.
Seeding density	de 2 à 4×10^5 cellules/ml
Fluid renewal	Tous les 2 ou 3 jours

Cellules de Toledo | 305351

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.