

Células de Toledo | 305351**Informações gerais****Description**

A linhagem celular Toledo é uma linhagem de linfoma difuso de grandes células B (DLBCL) que foi originalmente estabelecida a partir do sangue periférico de um paciente com DLBCL que, posteriormente, desenvolveu um linfoma secundário no cérebro após quimioterapia de alta dose e transplante de medula óssea. Essa linha celular apresenta um cariótipo complexo com múltiplas aberrações cromossômicas, mas não possui as translocações típicas associadas ao linfoma de Burkitt.

Uma das características únicas da linhagem celular Toledo é a ausência de expressão da cadeia polipeptídica de imunoglobulina (Ig), além de não apresentar segmentos genéticos detectáveis da região constante (C). Apesar disso, a Toledo mantém a capacidade de sofrer hipermutação somática em seus segmentos de genes variáveis (V), um fenômeno tipicamente observado em células B do centro germinativo. Curiosamente, a Toledo acumula mutações intraclonais com uma frequência maior do que outras linhagens celulares de linfoma, como Daudi e Raji, apesar da ausência de mutações clonais significativas. Isso sugere que o processo de mutação pode ter continuado in vitro após a transformação, oferecendo potencialmente um modelo valioso para o estudo dos mecanismos moleculares da hipermutação somática.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Linfoma difuso de grandes células B do tipo células B do centro germinativo

Applications

Cultura celular 3D, Imunologia

Synonyms

TOLEDO

Características**Age**

Adulto

Gender

Mulher

Ethnicity

caucasiano

Morphology

Linfoblasto

Growth properties

Suspensão

Dados regulatórios

Células de Toledo | 305351**Citation** Toledo (número de catálogo da Cytion 305351)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3611**Dados biomoleculares****Antigen expression** CD10+, CD19+, CD20+, CD38+, CD23-, CD39-**Viruses** EBV -, HBV -, HCV -, HIV-1 -, HIV-2 -, HTLV-1/2 -, MLV -, SMRV -**Mutational profile** Mutação: KRAS, simples, p.Gly13Asp (c.38G>A), heterozigótica; Mutação: TP53, simples, p.Glu198fs (c.592_596del5), não especificada**Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Nenhum**Doubling time** 50 horas**Subculturing** Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 5×10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro do intervalo de 3×10^5 a 1×10^6 células/ml para um crescimento ideal.**Seeding density** 2 a 4×10^5 células/ml**Fluid renewal** A cada 2 ou 3 dias

Células de Toledo | 305351

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células de Toledo | 305351

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.