Product sheet

35.1 клетки | 305002

Обща информация

Description	35.1 са хибридомни клетки, получени от B-клетки на Mus musculus и миелом. От особен интерес е реактивността им към повърхностния протеин на човешките T-клетки Tp50 (CD2), което ги прави ценни инструменти за целенасочени изследвания. Антителата, произвеждани от клетките 35.1, инхибират пролиферативните реакции и цитотоксичността на T-клетките, без да пречат на антитяло-медиираната клетъчна цитотоксичност. Получени от сливането на клетки от слезката с миеломни клетки NSI/1, клетките 35.1 експресират гени за производство на имуноглобулини, по-специално моноклонални антитела срещу човешки CD2. Изотипът на антителата е IgG2a.
Organism	Мишка
Tissue	Слезка (с Б-клетъчен произход) / Костен мозък (партньор за сливане при миелома NSI/1)
Disease	Хибридома (сливане на B-клетка и миеломна клетка); произвежда моноклонално антитяло срещу човешки CD2 (Tp50)
Metastatic site	Неприложимо (хибридомна клетъчна линия; не е проба от първичен тумор)
Applications	Производство на моноклонални антитела (анти-човешки CD2, IgG2a); изследвания в областта на биологията на T-клетките; проучвания на медиираната от CD2 активация и пролиферация на T-клетките; имунологични тестове, изискващи блокиране на CD2; изследвания в областта на цитотоксичността; хибридомална технология
Synonyms	HB-222

Характеристики

Breed/Subspecies	BALB/c (с миеломна основа NSI/1)
Age	Неуточнена възраст
Gender	Неуточнен пол
Ethnicity	Неприложимо (клетъчна линия от мишка)
Morphology	Лимфобласт
Cell type	B-лимфобластни / хибридомни клетки
Growth properties	Окачване

35.1 клетки | 305002

Регулаторни данни

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Този хибридом съдържа пренаредени гени на имуноглобулин, произхождащи от сливане на B-клетка с миеломна клетка. Гените на тежките и леките вериги на IgG2a се експресират от партньора по сливането – B-клетката. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Имуноглобулин, моноклонално антитяло, срещу човешки CD2

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Добавете към средата 10 % FBS и 0,05 mM 2-меркаптоетанол
Dissociation Reagent	Няма
Doubling time	приблизително 24 до 36 часа
Subculturing	Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата, като я пипетирате нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разредете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от 1 x 10^5 клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	от 1 до 5 × 10^5 клетки/мл

35.1 клетки | 305002

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването центрофугирайте клетките при 300×g в продължение на 5 минути, отстранете супернатантата, съдържаща криопротектор, и ги ресуспендирайте в прясна, предварително затоплена пълна среда при концентрация 1 × 10^5 клетки/мл. Оставете клетките да се възстановят и размножат в продължение на поне 24–48 часа преди първата стъпка на пасажиране.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

35.1 клетки | 305002

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.