

35.1 buňky | 305002**Obecné informace**

Description	35.1 jsou hybridomové buňky odvozené z B-buněk <i>Mus musculus</i> a myelomu. Zvláště zajímavá je jejich reaktivita na povrchový protein lidských T-buněk Tp50 (CD2), což z nich činí cenné nástroje pro cílený výzkum. Protilátka produkovaná buňkami 35.1 inhibuje proliferační reakce a cytotoxicitu T-buněk, aniž by zasahovala do buněčné cytotoxicity zprostředkované protilátkou. Buňky 35.1, odvozené z fúze buněk sleziny s myelomovými buňkami NSI/1, exprimují geny pro produkci imunoglobulinů, konkrétně monoklonálních protilátek proti lidskému CD2. Izotyp protilátky je IgG2a.
Organism	Myš
Tissue	Slezina (původ v B-buňkách) / Kostní dřeň (fúzní partner myelomu NSI/1)
Disease	Hybridom (fúze B-buněk a myelomu); produkuje monoklonální protilátku proti lidskému CD2 (Tp50)
Metastatic site	Neplatí (hybridomová buněčná linie; nejedná se o vzorek primárního nádoru)
Applications	Výroba monoklonálních protilátek (proti lidskému CD2, IgG2a); výzkum biologie T buněk; studie aktivace a proliferace T buněk zprostředkované CD2; imunologické testy vyžadující blokádu CD2; výzkum cytotoxicity; technologie hybridomů
Synonyms	HB-222

Charakteristika

Breed/Subspecies	BALB/c (na pozadí myelomu NSI/1)
Age	Věk nespecifikován
Gender	Pohlaví nespecifikováno
Ethnicity	Neplatí (myší buněčná linie)
Morphology	Lymfoblasty
Cell type	B-lymfoblastové / hybridomové buňky
Growth properties	Zavěšení

Regulační údaje

35.1 buňky | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Tento hybridom obsahuje přeskupené geny imunoglobulinů pocházející z fúze B-buňky a myelomu. Geny těžkých a lehkých řetězců IgG2a jsou exprimovány z fúzního partnera, jímž je B-buňka. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	Imunoglobulin, monoklonální protilátka proti lidskému CD2
---------------------------	---

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Do média přidejte 10 % FBS a 0,05 mM 2-merkapt ethanolu
Dissociation Reagent	Žádný
Doubling time	přibližně 24 až 36 hodin
Subculturing	Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	$1 \text{ až } 5 \times 10^5$ buněk/ml
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

35.1 buňky | 305002**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení buňky odstředte při 300×g po dobu 5 minut, odstraňte supernatant obsahující kryoprotektant a buňky resuspendujte v čerstvém, předem ohřátém kompletním médiu v koncentraci 1×10^5 buněk/ml. Před prvním pasážováním nechte buňky alespoň 24–48 hodin zotavit se a rozmnožit.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150°C , abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37°C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40–60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78°C . Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

35.1 buňky | 305002

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.