

MR1-Zellen | 305000

Allgemeine Informationen

Organism Tierische Zellen

Merkmale

Morphology Lymphoblasten

Growth properties Aufhängung

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation MR1 (Cytion Katalognummer 305000)

Biosafety level 1

Expression / Mutation

Protein expression Immunglobulin, monoklonaler Antikörper, gegen Maus-CD40-Ligand (CD154, CD40L, gp39)

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Medium supplements Supplementierung des Mediums mit 10% FBS, 0,05 mM 2-Mercaptoethanol

Passaging solution Bei der Passage von Zellen, die in Suspension kultiviert werden, ist die Verwendung einer Passage-Lösung nicht erforderlich. Das geeignete Verfahren besteht darin, die Zellen gemäß den angegebenen Leitlinien zu verdünnen.

Subculturing Die Zellsuspension im Kolben resuspendieren und eine repräsentative Aliquote entnehmen, um die Zellzahl pro ml zu zählen. Zellsuspension mit frischem Medium auf 1×10^5 Zellen/ml verdünnen und in neue Flaschen überführen.

Split ratio 1:2 bis 1:6

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

MR1-Zellen | 305000

Freeze medium

CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

Handling of cryopreserved cultures

MR1-Zellen werden in tiefgefrorenem Zustand auf Trockeneis versandt. Vergewissern Sie sich bei Erhalt, dass das Fläschchen gefroren ist. Lagern Sie das Kryovial sofort bei Temperaturen unter -150 Grad. Wenn Sie die Zellen sofort kultivieren wollen, tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es 40-60 Sekunden lang in einem 37 Grad warmen Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel schütteln. Entfernen Sie das Fläschchen, sobald sich ein kleiner Eisklumpen gebildet hat, und stellen Sie sicher, dass es kalt bleibt. Führen Sie alle weiteren Schritte unter aseptischen Bedingungen durch. Desinfizieren Sie das Kryovial unter einer sterilen Abzugshaube mit 70%igem Ethanol. Anschließend das Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen überführen, das mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur gefüllt ist. Die Zellen vorsichtig mischen. Zur Zellseparation 3 Minuten lang bei 300 x g zentrifugieren und den Überstand entsorgen. Das Auslassen der Zentrifugation ist fakultativ, allerdings sollten etwaige Reste des Gefriermediums nach 24 Stunden entfernt werden. Das Pellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren und auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen. Für die weiteren Schritte das Subkulturprotokoll befolgen.

Handling of proliferating cultures

Ein oder zwei Zellkulturflaschen werden mit Zellkulturmedium gefüllt. Sammeln Sie das gesamte Medium in einem 50-ml-Zentrifugenröhrchen. Zentrifugieren Sie das gesammelte Medium 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen zu sammeln, die sich während des Transports abgelöst haben könnten. Wenn ein Zellpellet sichtbar ist, die Zellen in 5 ml Zellkulturmedium resuspendieren und in eine T25-Zellkulturflasche überführen. Geben Sie vorsichtig 5 ml Zellkulturmedium in jede T25-Zellkulturflasche. Prüfen Sie die Zellmorphologie und den Konfluenzgrad mit einem Mikroskop. Schließlich werden die Flaschen mindestens 24 Stunden lang bei 37 Grad Celsius bebrütet.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl mit PCR-basierten Assays als auch mit lumineszenzbasierten Mykoplasmen-Nachweisverfahren rigoros ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.