

35.1 κελιά | 305002

Γενικές πληροφορίες

Description	35.1 είναι υβριδικά κύτταρα που προέρχονται από κύτταρα B του Mus musculus και μυέλωμα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αντιδραστικότητά τους στην επιφανειακή πρωτεΐνη Trp50 (CD2) των ανθρώπινων T κυττάρων, γεγονός που τα καθιστά πολύτιμα εργαλεία για στοχευμένη έρευνα. Το αντίσωμα που παράγεται από τα κύτταρα 35.1 αναστέλλει τις πολλαπλασιαστικές αποκρίσεις και την κυτταροτοξικότητα των T-κυττάρων χωρίς να παρεμβαίνει στην κυτταρική κυτταροτοξικότητα που μεσολαβείται από το αντίσωμα. Τα κύτταρα 35.1 που προέρχονται από τη σύντηξη κυττάρων σπλήνα με κύτταρα μυελώματος NSI/1, εκφράζουν γονίδια για την παραγωγή ανοσοσφαιρινών, συγκεκριμένα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του ανθρώπινου CD2. Ο ισότυπος του αντισώματος είναι IgG2a.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Σπλήνας (προέλευση από B-κύτταρα) / Μυελός των οστών (συνεργός σύντηξης του μυελώματος NSI/1)
Disease	Υβριδώμα (σύντηξη B-κυττάρου × μυελώματος)· παράγει μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του ανθρώπινου CD2 (Trp50)
Metastatic site	Δεν ισχύει (γραμμή κυττάρων υβριδώματος· δεν πρόκειται για δείγμα πρωτογενούς όγκου)
Applications	Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων (αντι-ανθρώπινου CD2, IgG2a)· έρευνα στη βιολογία των T-κυττάρων· μελέτες ενεργοποίησης και πολλαπλασιασμού των T-κυττάρων που μεσολαβούνται από το CD2· ανοσολογικές δοκιμασίες που απαιτούν αναστολή του CD2· έρευνα στην κυτταροτοξικότητα· τεχνολογία υβριδωμάτων
Synonyms	HB-222

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	BALB/c (με υπόβαθρο μυελώματος NSI/1)
Age	Απροσδιόριστη ηλικία
Gender	Φύλο απροσδιόριστο
Ethnicity	Δεν ισχύει (γραμμή κυττάρων ποντικού)
Morphology	Λεμφοβλάστες
Cell type	B-λεμφοβλαστικά κύτταρα / κύτταρα υβριδώματος
Growth properties	Αναστολή

35.1 κελιά | 305002

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Αυτό το υβριδύμα περιέχει αναδιαταγμένα γονίδια ανοσοσφαιρίνης που προέρχονται από σύντηξη B-κυττάρου με μυέλωμα. Τα γονίδια των βαριών και ελαφρών αλυσίδων IgG2a εκφράζονται από τον σύντροφο της σύντηξης, το B-κύτταρο. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Ανοσοσφαιρίνη, μονοκλωνικό αντίσωμα, έναντι του ανθρώπινου CD2
--------------------	--

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Προσθέστε στο μέσο 10% FBS και 0,05 mM 2-μερκαπτοαιθανόλη
Dissociation Reagent	Κανένα
Doubling time	περίπου 24 έως 36 ώρες
Subculturing	Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων 1×10^5 κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	1 έως 5×10^5 κύτταρα/ml

35.1 κελιά | 305002**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery**

Μετά την απόψυξη, φυγοκεντρήστε τα κύτταρα στα 300×g για 5 λεπτά, απομακρύνετε τον υπερκείμενο που περιέχει κρυοπροστατευτικό και ανασυστήστε τα σε φρέσκο, προθερμασμένο πλήρες μέσο σε συγκέντρωση 1×10^5 κύτταρα/ml. Αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν και να πολλαπλασιαστούν για τουλάχιστον 24–48 ώρες πριν από το πρώτο στάδιο μεταμόσχευσης.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

35.1 κελιά | 305002

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.