

35.1 rakk | 305002

Üldine teave

Description	35.1 on Mus musculus B-rakkudest ja müeloomist saadud hübriidrakud. Erilist huvi pakub nende reaktiivsus inimese T-rakkude pinnavalgu Tp50 (CD2) suhtes, mis muudab nad väärtuslikuks vahendiks sihtotstarbelistes uuringutes. Rakkude 35.1 toodetud antikeha päsib T-rakkude proliferatiivset reaktsiooni ja tsütotoksilisust, ilma et see häiriks antikehade poolt vahendatud rakkude tsütotoksilisust. 35.1 rakud, mis on saadud põrna rakkude ja NSI/1 müeloomirakkude fusioonist, ekspresseerivad immunoglobuliini tootmise geene, eriti inimese CD2 vastu suunatud monoklonaalseid antikehi. Antikeha isotüüp on IgG2a.
Organism	Hiir
Tissue	Põrn (B-rakkude päritolu) / Luuüdi (NSI/1-müeloomi fusioonipartner)
Disease	Hübriidoma (B-rakk × müeloomi fusioon); toodab inimese CD2-vastast monoklonaalset antikeha (Tp50)
Metastatic site	Ei kohaldata (hübriidoma rakuliin; ei ole esmane kasvajaaproov)
Applications	Monoklonaalsete antikehade tootmine (anti-inimese CD2, IgG2a); T-rakkude bioloogia alased uuringud; CD2-vahendatud T-rakkude aktiveerimise ja proliferatsiooni uuringud; CD2 blokeerimist nõudvad immunoloogilised analüüsid; tsütotoksilisuse uuringud; hübriidoma tehnoloogia
Synonyms	HB-222

Omadused

Breed/Subspecies	BALB/c (NSI/1-müeloomi taust)
Age	Täpsustamata vanus
Gender	Täpsustamata sugu
Ethnicity	Ei kohaldata (hiire rakuliin)
Morphology	Lümfoblastid
Cell type	B-lümfoblastid / hübriidrakkud
Growth properties	Peatamine

Regulatiivsed andmed

35.1 rakk | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: See hübriidoma sisaldab B-raku ja müeloomi fusioonist pärinevaid ümberkorraldatud immunoglobuliinigeene. IgG2a raskete ja kergete ahelate geenid ekspresseeruvad B-raku fusioonipartnerist. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Immunoglobuliin, monoklonaalne antikeha, inimese CD2 vastu
--------------------	--

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i ja 0,05 mM 2-merkaptotetanooli
Dissociation Reagent	Puudub
Doubling time	umbes 24–36 tundi
Subculturing	Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.
Split ratio	1–5
Seeding density	1 kuni 5×10^5 rakku/ml
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

35.1 rakk | 305002

**Post-Thaw
Recovery**

Pärast sulatamist tsentrifuugige rakke 300×g juures 5 minutit, eemaldage krüoprotektiivi sisaldav supernatant ja suspendeerige rakud uuesti värskes, eelsoojendatud täiskeskkonnas kontsentratsiooniga 1×10^5 rakku/ml. Enne esimest passaaži laske rakkudel taastuda ja paljuneda vähemalt 24–48 tundi.

**Freeze
medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialli kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialli ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

35.1 rakk | 305002

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.