

MR1 rakud | 305000

Üldine teave

Description

MR1 on hübriidoomi rakuliin, mis on saadud põrnarakkude ja NS-1 müeloomirakkude fusioonist pärast loomade immuniseerimist hiirte T-rakkudega, eelkõige Th1-alatüübiga. Need rakud ekspresseerivad immunoglobuliini, eriti monoklonaalseid antikehi, mis on suunatud hiire CD40 ligandile (CD154, tuntud ka kui gp39 või CD40L). Toodetud monoklonaalse antikeha isotüüp on IgG. CD154 on oluline molekul, mis osaleb T-rakkude interaktsioonis, eriti B-rakkude aktiveerimisel, kuna selle seundumine B-rakkude CD40-ga on oluline B-rakkude proliferatsiooniks, diferentseerumiseks ja immunoglobuliinide tootmiseks. See seundumine mõjutab ka T-rakkude kostimulatsiooni ja tsütokiinide tootmist, mistõttu CD154 on oluline sihtmärk terapeutiliseks sekkumiseks immuunsüsteemi moduleerimisel.

MR1-st saadud antikehad on spetsiifiliselt suunatud CD154 ja CD40 vahelisele koostoimele ja blokeerivad seda, millel on terapeutiline mõju erinevates immuunvastustes. Eelkõige on CD154-vastaseid antikehi kasutatud selleks, et tekitada T-rakkude vastuseisundit siirdatud elundite suhtes. Blokeerides CD154-CD40 koostoimet, pärsivad MR1 antikehad T-rakkude aktiveerimist ja sellega seotud immuunvastust, soodustades tolerantsuse seisundit. See strateegia on eriti väärtuslik elundite hülgamise vältimiseks siirdatud patsientidel, kuna see võimaldab pikaajalist elustamist ilma süsteemsete immunosupressantide kasutamiseta, millel võivad olla ulatuslikud kõrvaltoimed. Eksperimentaalsetes mudelites on MR1 antikehad näidanud, et nad suudavad pikendada pankrease saarekeste transplantatsiooni elulemust, mis on oluline diabeedi ravimisel saarekeste siirdamise abil.

MR1 antikehasid kasutatakse ka autoimmuunhaiguste uurimisel, kus kriitilist rolli mängib T- ja B-rakkude ebasobiv aktiveerimine CD40-CD154 interaktsioonide kaudu. Neid vastastikmõjusid pärssides võivad MR1 antikehad aidata moduleerida immuunvastuseid, mis muudab need potentsiaalseteks kandidaatideks terapeutilisteks rakendusteks peale siirdamise, sealhulgas autoimmuunhaiguste ja teatavate lümfoproliferatiivsete haiguste puhul. Uurimis- ja patendikirjanduses on uuritud MR1 kasutamist erinevates rakendustes, rõhutades selle tähtsust immuunsüsteemi reguleerimise ja terapeutiliste antikehade väljatöötamise valdkonnas.

Organism Loomsed rakud

Omadused

Morphology Lümfoblastid

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation MR1 (Cytioni katalooginumber 305000)

Biosafety level 1

MR1 rakud | 305000

NCBI_TaxID 10090/10032

CellosaurusAccession CVCL_8964

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Immunoglobuliin, monoklonaalne antikeha, hiire CD40 ligandi (CD154, CD40L, gp39) vastu

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,05 mM 2-merkaptotoetanooliga**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.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MR1 rakud | 305000

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial 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 viali 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

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.

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.

MR1 rakud | 305000

**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 / Geneetiline profiil / HLA

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.