

35.1 solu | 305002

Yleisiä tietoja

Description	35.1 ovat hybridoomasoluja, jotka on johdettu Mus musculus B-soluista ja myeloomasta. Erityisen kiinnostavaa on niiden reaktiivisuus ihmisen T-solujen pintaproteiineille Tp50 (CD2), mikä tekee niistä arvokkaita välineitä kohdennettuun tutkimukseen. 35.1-solujen tuottama vasta-aine estää T-solujen proliferatiivisia vasteita ja sytotoksisuutta häiritsemättä vasta-aineen välittämää solujen sytotoksisuutta. Pernasolujen ja NSI/1-myeloomasolujen fuusiosta peräisin olevat 35.1-solut ilmentävät immunoglobuliinien, erityisesti ihmisen CD2:ta vastaan tarkoitettujen monoklonaalisten vasta-aineiden tuotantoon tarkoitettuja geenejä. Vasta-aineen isotyypin on IgG2a.
Organism	Hiiri
Tissue	Perna (B-soluperäinen) / Luuydin (NSI/1-myelooman fuusiokumppani)
Disease	Hybridoma (B-solu × myelooma-fusio); tuottaa monoklonaalista vasta-ainetta ihmisen CD2:ta vastaan (Tp50)
Metastatic site	Ei sovelleta (hybridomasolulinja; ei primaarinen kasvainnäyte)
Applications	Monoklonaalisten vasta-aineiden tuotanto (ihmisen CD2:ta vastaan, IgG2a); T-solubiologian tutkimus; CD2:n välittämää T-solujen aktivaatiota ja proliferaatiota koskevat tutkimukset; CD2:n salpausta edellyttävät immunologiset määritykset; sytotoksisuustutkimus; hybridoma-tekniikka
Synonyms	HB-222

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	BALB/c (NSI/1-myeloomatausta)
Age	Ikä määrittelemätön
Gender	Sukupuoli määrittelemätön
Ethnicity	Ei sovelleta (hiiren solulinja)
Morphology	Lymfoblastit
Cell type	B-lymfoblasti- / hybridomasolut
Growth properties	Jousitus

Säätelytiedot

35.1 solu | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Tämä hybridoma sisältää uudelleenjärjestyneitä immunoglobuliinigeenejä, jotka ovat peräisin B-solun ja myelooman fuusiosta. IgG2a-tyypin raskaiden ja kevyiden ketjujen geenit ilmentyvät B-solun fuusiokumppanista. Tämä luokitus on voimassa vain Saksassa, ja se voi poiketa muissa maissa.

Biomolekyylitiedot

Protein expression	Immunoglobuliini, monoklonaalinen vasta-aine, ihmisen CD2:ta vastaan
--------------------	--

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % FBS:ää ja 0,05 mM 2-merkaptotetanolia
Dissociation Reagent	Ei mitään
Doubling time	noin 24–36 tuntia
Subculturing	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1×10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
Split ratio	1–5
Seeding density	$1-5 \times 10^5$ solua/ml
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

35.1 solu | 305002

Post-Thaw Recovery

Sulatuksen jälkeen sentrifugoi solut 300×g:n voimalla 5 minuutin ajan, poista kryoprotektiivia sisältävä supernatantti ja suspendoi solut uudelleen tuoreeseen, esilämmitettyyn täydelliseen elatusaineeseen pitoisuudella 1×10^5 solua/ml. Anna solujen toipua ja lisääntyä vähintään 24–48 tuntia ennen ensimmäistä siirtoa.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

35.1 solu | 305002

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.