

MR1-solut | 305000

Yleisiä tietoja

Description

MR1 on hybridoomasolulinja, joka on peräisin pernasolujen ja NS-1-myeloomasolujen fuusiosta, kun eläimiä on immunisoitu hiiren T-soluilla, erityisesti Th1-alatyypin soluilla. Nämä solut ilmentävät immunoglobuliinia, erityisesti monoklonaalisia vasta-aineita, jotka kohdistuvat hiiren CD40-ligandiin (CD154, tunnetaan myös nimellä gp39 tai CD40L). Tuotetun monoklonaalisen vasta-aineen isotyypin on IgG. CD154 on ratkaiseva molekyyli, joka osallistuu T-solujen vuorovaikutukseen ja erityisesti B-solujen aktivoitumiseen, sillä sen sitoutuminen B-solujen CD40:ään on välttämätöntä B-solujen lisääntymiselle, erilaistumiselle ja immunoglobuliinien tuotannolle. Tämä sitoutuminen vaikuttaa myös T-solujen kustannusstimulaatioon ja sytokiinin tuotantoon, minkä vuoksi CD154 on tärkeä kohde terapeuttisille interventioille immuunijärjestelmän säätelyssä.

MR1:stä peräisin olevat vasta-aineet kohdistuvat spesifisesti CD154:n ja CD40:n väliseen vuorovaikutukseen ja estävät sen, millä on terapeuttisia vaikutuksia erilaisissa immuunivasteissa. Erityisesti CD154-vasta-aineita on käytetty aiheuttamaan T-solujen reagoimattomuus elinsiirtoihin elinsiirroissa. Estämällä CD154-CD40-vuorovaikutuksen MR1-vasta-aineet estävät T-solujen aktivoitumisen ja siihen liittyvän immuunivasteen ja edistävät toleranssitilaa. Tämä strategia on erityisen arvokas elinsiirron vastaanottajien elinhylynnän ehkäisyssä, koska se mahdollistaa pitkäaikaisen eloonjäämisen ilman systeemisiä immunosuppressantteja, joilla voi olla laajoja sivuvaikutuksia. Kokeellisissa malleissa MR1-vasta-aineet ovat osoittaneet kykenevänsä pidentämään haiman saarekesiirteiden elossaoloaikaa, mikä on merkittävää diabeteksen hoidossa saarekesiirron avulla.

MR1-vasta-aineita hyödynnetään myös autoimmuunisairauksiin liittyvässä tutkimuksessa, joissa T- ja B-solujen epäasianmukainen aktivoituminen CD40-CD154-vuorovaikutuksen kautta on ratkaisevassa asemassa. Estämällä näitä vuorovaikutuksia MR1-vasta-aineet voivat auttaa moduloimaan immuunivasteita, mikä tekee niistä potentiaalisia ehdokkaita terapeuttisiin sovelluksiin elinsiirtojen lisäksi myös autoimmuunisairauksissa ja tietyissä lymfoproliferatiivisissa sairauksissa. Tutkimus- ja patenttikirjallisuudessa on tutkittu MR1:n käyttöä erilaisissa sovelluksissa, mikä korostaa sen merkitystä immuunijärjestelmän säätelyn ja terapeuttisten vasta-aineiden kehittämisen alalla.

Organism Eläinsolut

Ominaisuudet

Morphology Lymfoblastit

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation MR1 (Cytionin luettelonumero 305000)

Biosafety level 1

MR1-solut | 305000

NCBI_TaxID 10090/10032

CellosaurusAccession CVCL_8964

Biomolekyylitiedot

Protein expression Immunoglobuliini, monoklonaalinen vasta-aine, hiiren CD40-ligandia vastaan (CD154, CD40L, gp39)

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:ää, 0,05 mM 2-merkaptetanolilla

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.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

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.

MR1-solut | 305000

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

MR1-solut | 305000

**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 / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittäyksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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