

35.1 Cellules | 305002**Informations générales**

Description	35.1 sont des cellules hybrides dérivées d'un myélome et d'une cellule B de Mus musculus. Leur réactivité à la protéine de surface des cellules T humaines Tp50 (CD2) est particulièrement intéressante, ce qui en fait des outils précieux pour la recherche ciblée. L'anticorps produit par les cellules 35.1 inhibe les réponses prolifératives et la cytotoxicité des cellules T sans interférer avec la cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps. Issues de la fusion de cellules de la rate avec des cellules de myélome NSI/1, les cellules 35.1 expriment des gènes pour la production d'immunoglobulines, en particulier des anticorps monoclonaux contre le CD2 humain. L'isotype de l'anticorps est IgG2a.
Organism	Souris
Tissue	Rate (d'origine lymphoïde B) / Moelle osseuse (partenaire de fusion du myélome NSI/1)
Disease	Hybridome (fusion entre une cellule B et une cellule de myélome) ; produit un anticorps monoclonal dirigé contre le CD2 humain (Tp50)
Metastatic site	Sans objet (lignée cellulaire d'hybridome ; il ne s'agit pas d'un échantillon de tumeur primaire)
Applications	Production d'anticorps monoclonaux (anti-CD2 humain, IgG2a) ; recherche en biologie des lymphocytes T ; études sur l'activation et la prolifération des lymphocytes T médiées par le CD2 ; tests immunologiques nécessitant un blocage du CD2 ; recherche sur la cytotoxicité ; technologie des hybridomes
Synonyms	HB-222

Caractéristiques

Breed/Subspecies	BALB/c (souche de myélome NSI/1)
Age	Âge non spécifié
Gender	Sexe non spécifié
Ethnicity	Sans objet (lignée cellulaire de souris)
Morphology	Lymphoblaste
Cell type	Cellules lymphoblastiques B / cellules d'hybridomes
Growth properties	Suspension

35.1 Cellules | 305002

Données réglementaires

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1 : Cet hybridome contient des gènes d'immunoglobulines réarrangés issus d'une fusion entre une cellule B et un myélome. Les gènes des chaînes lourdes et légères d'IgG2a sont exprimés par le partenaire de fusion issu de la cellule B. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	Immunoglobuline, anticorps monoclonal, contre CD2 humain
--------------------	--

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,05 mM de 2-mercaptoéthanol
Dissociation Reagent	Aucun
Doubling time	environ 24 à 36 heures
Subculturing	Homogénéisez délicatement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélevez un échantillon représentatif afin de déterminer la densité cellulaire par ml. Diluez la suspension afin d'obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml avec un milieu de culture frais, puis répartissez la suspension ajustée dans de nouveaux flacons pour poursuivre la culture.
Split ratio	1 à 5
Seeding density	$1 \text{ à } 5 \times 10^5$ cellules/ml

35.1 Cellules | 305002

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, centrifuger les cellules à 300 × g pendant 5 minutes, retirer le surnageant contenant le cryoprotecteur, puis remettre les cellules en suspension dans un milieu complet frais préchauffé à une concentration de 1×10^5 cellules/ml. Prévoir au moins 24 à 48 heures pour la récupération et la multiplication avant la première étape de passage.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 × g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

35.1 Cellules | 305002

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

**Shipping
Conditions**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.