

35.1 ląstelės | 305002

Bendra informacija

Description	35.1 yra hibridomos ląstelės, gautos iš Mus musculus B ląstelių ir mielomos. Ypač įdomus jų reaktyvumas į žmogaus T ląstelių paviršiaus baltymą Tp50 (CD2), todėl jos yra vertingas įrankis tiksliniams tyrimams. 35.1 ląstelių gaminami antikūnai slopina T ląstelių proliferacinį atsaką ir citotoksiškumą, netrukdydami antikūnų medijuojamam ląstelių citotoksiškumui. 35.1 ląstelės, gautos susijungus blužnies ląstelėms su NSI/1 mielomos ląstelėmis, išreiškia genus imunoglobulinų gamybai, ypač monokloninių antikūnų prieš žmogaus CD2. Antikūnų izotipas yra IgG2a.
Organism	Pelė
Tissue	Bliuzas (B ląstelių kilmės) / Kaulų čiulpai (NSI/1 mielomos jungimosi partneris)
Disease	Hibridoma (B ląstelių ir mielomos susijungimas); gamina monokloninį antikūną prieš žmogaus CD2 (Tp50)
Metastatic site	Netaikoma (hibridomų ląstelių linija; tai nėra pirminio naviko mėginys)
Applications	Monokloninių antikūnų gamyba (prieš žmogaus CD2, IgG2a); T ląstelių biologijos tyrimai; CD2 reguliuojamos T ląstelių aktyvacijos ir proliferacijos tyrimai; imunologiniai tyrimai, kuriems reikalingas CD2 blokavimas; citotoksiškumo tyrimai; hibridomų technologija
Synonyms	HB-222

Charakteristikos

Breed/Subspecies	BALB/c (su NSI/1 mielomos fonu)
Age	Amžius nenurodytas
Gender	Lytis nenurodyta
Ethnicity	Netaikoma (pelės ląstelių linija)
Morphology	Limfoblastai
Cell type	B limfoblastų / hibridomų ląstelės
Growth properties	Pakaba

Reguliavimo duomenys

35.1 ląstelės | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Ši hibridoma turi pertvarkytus imunoglobulino genus, kilusius iš B ląstelių ir mielomos susijungimo. IgG2a sunkiųjų ir lengvųjų grandinių genai ekspresuojami iš B ląstelių susijungimo partnerio. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Imunoglobulinas, monokloninis antikūnas prieš žmogaus CD2
--------------------	---

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Į terpę įpilkite 10 % FBS ir 0,05 mM 2-merkaptoetanolio
Dissociation Reagent	Nėra
Doubling time	maždaug nuo 24 iki 36 valandų
Subculturing	Švelniai homogenizuokite kolboje esantį ląstelių suspensiją, pipetuodami aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvią mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį ml. Praskieskite suspensiją, kad pasiektumėte 1×10^5 ląstelių/ml koncentraciją šviežia kultūrinė terpė, ir padalinkite pakoreguotą suspensiją į naujas kolbas tolesniam augimui.
Split ratio	1–5
Seeding density	nuo 1 iki 5×10^5 ląstelių/ml
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

35.1 ląstelės | 305002**Post-Thaw
Recovery**

Atšildžius ląsteles, centrifuguokite jas 300×g greičiu 5 minutes, pašalinkite krioprotektanto turintį supernatantą ir resuspenduokite šviežioje, iš anksto pašildytoje pilnoje terpėje, kad koncentracija būtų 1×10^5 ląstelių/ml. Prieš pirmąjį perėjimą palikite ląsteles atsigauti ir padaugėti mažiausiai 24–48 valandas.

**Freeze
medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

35.1 ląstelės | 305002

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.