

35.1 šūnas | 305002

Vispārīga informācija

Description	35.1 ir hibrīdomu šūnas, kas iegūtas no Mus musculus B šūnām un mielomas. Īpaši interesanta ir to reaktivitāte pret cilvēka T šūnu virsmas proteīnu Tp50 (CD2), padarot tās par vērtīgu instrumentu mērķtiecīgiem pētījumiem. Antiviela, ko ražo 35.1 šūnas, kavē T šūnu proliferatīvo reakciju un citotoksicitāti, netraucējot antivielu mediēto šūnu citotoksicitāti. 35.1 šūnas, kas iegūtas, saplūstot liesas šūnām ar NSI/1 mielomas šūnām, ekspresē imūnglobulīnu ražošanas gēnus, īpaši monoklonālās antivielas pret cilvēka CD2. Antivielu izotips ir IgG2a.
Organism	Pele
Tissue	Liesma (B šūnu izcelsme) / Kaulu smadzenes (NSI/1 mielomas fūzijas partneris)
Disease	Hibridoma (B šūnu × mielomas fūzija); ražo monoklonālo antivielu pret cilvēka CD2 (Tp50)
Metastatic site	Neattiecas (hibridomu šūnu līnija; nav primāra audzēja paraugs)
Applications	Monoklonālo antivielu ražošana (pret cilvēka CD2, IgG2a); T šūnu bioloģijas pētījumi; pētījumi par CD2-mediētu T šūnu aktivāciju un proliferāciju; imunoloģiskie testi, kuros nepieciešama CD2 blokāde; citotoksicitātes pētījumi; hibrīdomu tehnoloģija
Synonyms	HB-222

Raksturojums

Breed/Subspecies	BALB/c (ar NSI/1 mielomas fonu)
Age	Vecums nav precizēts
Gender	Dzimums nav precizēts
Ethnicity	Neattiecas (peles šūnu līnija)
Morphology	Limfoblasts
Cell type	B limfoblastu / hibrīdomu šūnas
Growth properties	Apturēšana

Normatīvie dati

35.1 šūnas | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Šī hibridoma satur pārkārtotus imūnglobulīna gēnus, kas iegūti no B šūnu un mielomas fūzijas. IgG2a smagās un vieglās ķēdes gēni tiek ekspresēti no B šūnu fūzijas partnera. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	Imūnglobulīns, monoklonāla antivielā pret cilvēka CD2
--------------------	---

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS un 0,05 mM 2-merkaptetanolu
Dissociation Reagent	Neviens
Doubling time	aptuveni 24 līdz 36 stundas
Subculturing	Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1×10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.
Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	1 līdz 5×10^5 šūnas/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

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

Pēc atkausēšanas šūnas centrifugējiet ar 300×g 5 minūtes, nolejiet supernatantu, kas satur krioprotektantu, un atkārtoti suspendējiet svaigā, iepriekš uzsildītā pilnvērtīgā barotnē ar koncentrāciju 1×10^5 šūnu/ml. Pirms pirmā pasāzēšanas posma ļaujiet šūnām atgūties un vairoties vismaz 24–48 stundas.

**Freeze
medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

35.1 šūnas | 305002

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.