

MR1 šūnas | 305000

Vispārīga informācija

Description

MR1 ir hibrīdomu šūnu līnija, kas iegūta, saplūstot liesas šūnām ar NS-1 mielomas šūnām pēc dzīvnieku imunizācijas ar peļu T-šūnām, īpaši Th1 apakštipa šūnām. Šīs šūnas ekspresē imūnglobulīnu, īpaši monoklonālās antivielas, kas vērstas pret peles CD40 ligandu (CD154, pazīstams arī kā gp39 vai CD40L). Izveidotās monoklonālās antivielas izotips ir IgG. CD154 ir būtiska molekula, kas iesaistīta T šūnu mijiedarbībā, jo īpaši B šūnu aktivizācijā, jo tās saistīšanās ar CD40 uz B šūnām ir būtiska B šūnu proliferācijai, diferenciācijai un imūnglobulīnu ražošanai. Šī saistīšanās ietekmē arī T šūnu kostimulāciju un citokīnu ražošanu, padarot CD154 par svarīgu mērķi terapeitiskai iejaukšanai imūnmodulācijā.

MR1 atvasinātas antivielas ir īpaši mērķētas un bloķē CD154 un CD40 mijiedarbību, kam ir terapeitiska nozīme dažādās imūnās reakcijās. Jo īpaši pret CD154 vērstās antivielas ir izmantotas, lai transplantācijas laikā izraisītu T šūnu nereaģētspēju uz orgānu transplantātiem. Bloķējot CD154-CD40 mijiedarbību, MR1 antivielas kavē T šūnu aktivāciju un ar to saistīto imūno reakciju, veicinot tolerances stāvokli. Šī stratēģija ir īpaši vērtīga, lai novērstu orgānu atgrūšanu transplantātu saņēmējiem, jo tā nodrošina ilgstošu transplantāta izdzīvošanu bez nepieciešamības lietot sistēmiskus imūnsupresantus, kam var būt plašas blakusparādības. Eksperimentālos modeļos MR1 antivielas ir pierādījušas spēju paildzināt aizkuņģa dziedzera saliņu transplantāta izdzīvošanu, kas ir nozīmīgi diabēta ārstēšanā ar saliņu transplantācijas palīdzību.

MR1 antivielas tiek izmantotas arī pētījumos, kas saistīti ar autoimūnām slimībām, kur būtiska nozīme ir T un B šūnu neatbilstošai aktivācijai, izmantojot CD40-CD154 mijiedarbību. Inhibējot šīs mijiedarbības, MR1 antivielas var palīdzēt modulēt imūnās atbildes reakcijas, padarot tās par potenciāliem kandidātiem terapeitiskiem lietojumiem ārpus transplantācijas, tostarp autoimūno slimību un noteiktu limfoproliferatīvu slimību gadījumos. Pētījumos un patentu literatūrā ir pētīta MR1 izmantošana dažādos pielietojumos, uzsverot tās nozīmi imūnregulācijas un terapeitisko antivielu izstrādes jomā.

Organism Dzīvnieku šūnas

Raksturojums

Morphology Limfoblasts

Growth properties Apturēšana

Normatīvie dati

Citation MR1 (Cytion kataloga numurs 305000)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090/10032

CellosaurusAccession CVCL_8964

MR1 šūnas | 305000

Biomolekulārie dati

Protein expression

Imūnglobulīns, monoklonāla antivielas pret peles CD40 ligandu (CD154, CD40L, gp39)

Darbs ar

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements

Papildināt barotni ar 10% FBS, 0,05 mM 2-merkaptoetanolu

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.

Fluid renewal

2 līdz 3 reizes nedēļā

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.

MR1 šūnas | 305000

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, 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 x 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.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

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

MR1 šūnas | 305000

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 / Ģenētiskais profils / HLA

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.