

Sp2/0-Ag14 šūnas | 400481**Vispārīga informācija****Description**

Sp2/0-Ag14 šūnu līnija, ko parasti dēvē par Sp2/0, ir peļu mielomas šūnu līnija, ko plaši izmanto monoklonālo antivielu ražošanai. Šī šūnu līnija, kas iegūta no peļu celma BALB/c, tika izveidota, sapludinot imunizētu peļu liesas šūnas ar mielomas šūnām, kurām trūkst enzīma hipoksantīna-guanīna fosforibosiltransferāzes (HGPRT). Šī nepilnība Sp2/0 šūnām neļauj izdzīvot HAT (hipoksantīns, aminopterīns, timidīns) barotnē, kas ir būtiska hibrīdomu selekcijai, ja tās tiek sapludinātas ar imunizētu peļu liesas šūnām, jo šajā selektīvajā barotnē var vairoties tikai hibrīdomu šūnas.

Sp2/0-Ag14 šūnu līnijai ir raksturīga stabilitāte un izturība šūnu kultūrā, tāpēc tā ir ieteicama hibrīdomu ražošanai. Tas, ka šajās šūnās nenotiek imūnglobulīnu ražošana, ir ļoti svarīga īpašība, jo tā novērš endogēno imūnglobulīnu sekrēciju, kas varētu traucēt monoklonālās antivielas, ko ražo hibrīdomas. Šī šūnu līnija ir plaši izmantota zinātniskajos pētījumos un rūpnieciskos lietojumos, lai radītu monoklonālas antivielas pret plašu antigēnu klāstu. Izgatavotās antivielas izmanto pētniecībā, diagnostikā un terapijā, tādējādi uzsverot Sp2/0 šūnu līnijas nozīmīgo lietderību biotehnoloģiju un farmācijas nozarē.

Organism

Pele

Tissue

Asinis

Disease

B šūnu hibrīdoma

Synonyms

SP2/0-Ag14, SP2/0-AG14, SP2/0-ag14, Sp2/O-Ag14, SP2/O-Ag14, Sp2/0-Ag14, SP2/0-Ag-14, SP2-0-Ag14, SP2/0 Ag-14, SP-2/0-AG14, Sp 2/0-Ag 14, Sp2/0, SP2/0, SP2/0, Sp2/O, SP2/O, SP2/O, SP-2, SP2, GM03569, GM3569, GM03569B, GM3569B, GM03569D

Raksturojums**Breed/Subspecies**

BALB/c

Morphology

Apaļas šūnas

Growth properties

Pielipšana/suspensija

Normatīvie dati**Citation**

Sp2/0-Ag14 (Cytion kataloga numurs 400481)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

Sp2/0-Ag14 šūnas | 400481

CellosaurusAccession CVCL_2199

Biomolekulārie dati

Antigen expression H-2d**Viruses** Veikts tests uz ektoimūnības vīrusu (peļu bakas), un tas atzīts par negatīvu.

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Subculturing** Savāc barotni ar peldošām šūnām mikrocentrifūgas mēģenē. Noskalojiet pielipušās šūnas, izmantojot PBS bez kalcija un magnija (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 šūnu kultūru kolbām). Pievienojiet Accutase (1-2 ml uz T25, 2,5 ml uz T75 šūnu kultūru kolbu), šūnu sloksnei jābūt pilnībā pārklātai. Inkubēt 10 minūtes 37 °C temperatūrā. Apvienot peldošās šūnas un atdalītās šūnas vienā mēģenē, centrifugēt ar 300xg 3 minūtes. Uzmanīgi resuspendēt šūnas svaigā barotnē un iepildīt jaunās kolbās, kurās ir svaiga barotne.**Seeding density** Saglabājiet šūnu blīvumu starp 5×10^4 un 5×10^6 dzīvotspējīgām šūnām/ml.**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.

Sp2/0-Ag14 šūnas | 400481**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.

Sp2/0-Ag14 šūnas | 400481

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

STR profils

Amelogenin: x,x
M_18-3: 17, 18, 19, 20
M_4-2: 21. marts
M_6-7: 12,13
M_3-2: 13, 14, 15
M_19-2: 12,13
M_7-1: 24.2, 25.2
M_1-1: 16, 17, 19
M_8-1: 13
M_2-1: 15,16
M_15-3: 21.3, 23.3
M_6-4: 18,19
M_11-2: 17
M_1-2: 16,17
M_17-2: 16
M_12-1: 15,16
M_5-5: 14,15
M_X-1: 25, 26
M_13-1: 16.2, 17.2, 18.2
Human D4/D8: -