

## 35.1 Celler | 305002

## Generell informasjon

|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b>     | 35.1 er hybridomceller avledet fra en Mus musculus B-celle og myelom. De er spesielt interessante på grunn av sin reaktivitet mot det humane T-celleoverflateproteinet Tp50 (CD2), noe som gjør dem til verdifulle verktøy for målrettet forskning. Antistoffet som produseres av 35.1-celler, hemmer T-celleproliferative responser og cytotoxiskitet uten å forstyrre antistoffmediert cellulær cytotoxiskitet. 35.1-cellene, som stammer fra fusjon av miltceller med NSI/1-myelomceller, uttrykker gener for produksjon av immunglobuliner, spesielt monoklonale antistoffer mot humant CD2. Isotypen til antistoffet er IgG2a. |
| <b>Organism</b>        | Mus                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Tissue</b>          | Milt (av B-celler) / Benmarg (NSI/1-myelomfusjonspartner)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Disease</b>         | Hybridom (fusjon av B-celle og myelom); produserer monoklonalt antistoff mot humant CD2 (Tp50)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Metastatic site</b> | Ikke relevant (hybridomcellelinje; ikke en primær tumorprøve)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Applications</b>    | Produksjon av monoklonale antistoffer (anti-humant CD2, IgG2a); forskning på T-cellebiologi; studier av CD2-mediert aktivering og proliferasjon av T-celler; immunologiske analyser som krever CD2-blokkering; forskning på cytotoxiskitet; hybridomteknologi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Synonyms</b>        | HB-222                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

## Kjennetegn

|                          |                                |
|--------------------------|--------------------------------|
| <b>Breed/Subspecies</b>  | BALB/c (NSI/1-myelombakgrunn)  |
| <b>Age</b>               | Uspesifisert alder             |
| <b>Gender</b>            | Kjønn uspesifisert             |
| <b>Ethnicity</b>         | Ikke relevant (musecellelinje) |
| <b>Morphology</b>        | Lymfoblast                     |
| <b>Cell type</b>         | B-lymfoblast-/hybridomceller   |
| <b>Growth properties</b> | Oppheng                        |

## Regulatoriske data

**35.1 Celler | 305002**

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Biosafety level</b>      | 2                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 10090                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_7239                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>GMO Status</b>           | GMO-S1: Dette hybridomaet inneholder omorganiserte immunoglobulin-gener fra en fusjon mellom en B-celle og et myelom. Gener for tunge og lette kjeder av typen IgG2a uttrykkes fra B-celle-fusjonspartneren. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder. |

**Biomolekylære data**

|                           |                                                       |
|---------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>Protein expression</b> | Immunoglobulin, monoklonalt antistoff, mot humant CD2 |
|---------------------------|-------------------------------------------------------|

**Håndtering**

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b>       | RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Supplements</b>          | Tilsett 10 % FBS og 0,05 mM 2-merkaptoetanol i mediet                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Ingen                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Doubling time</b>        | ca. 24 til 36 timer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Subculturing</b>         | Homogeniser celsuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celletettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på $1 \times 10^5$ celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking. |
| <b>Split ratio</b>          | 1 til 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Seeding density</b>      | 1 til $5 \times 10^5$ celler/ml                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Fluid renewal</b>        | 2 til 3 ganger per uke                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

## 35.1 Celler | 305002

### Post-Thaw Recovery

Etter opptining sentrifugeres cellene ved 300×g i 5 minutter, supernatanten som inneholder kryobeskyttelsesmiddel fjernes, og cellene resuspenderes i ferskt, forvarmet komplett medium med en konsentrasjon på  $1 \times 10^5$  celler/ml. La cellene få minst 24–48 timer til å komme seg og formere seg før det første passasjetrinnet.

### Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ °C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ °C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ °C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### 35.1 Celler | 305002

---

#### **Storage Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

### **Kvalitetskontroll og molekylær analyse**

#### **Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.