

35.1 Komórki | 305002**Informacje ogólne**

Description	35.1 to komórki hybrydoma pochodzące z komórek B Mus musculus i szpiczaka. Szczególnie interesująca jest ich reaktywność na białko powierzchniowe ludzkich komórek T Tp50 (CD2), co czyni je cennymi narzędziami do ukierunkowanych badań. Przeciwciało wytwarzane przez komórki 35.1 hamuje odpowiedzi proliferacyjne i cytotoksyczność komórek T bez zakłócania cytotoksyczności komórkowej, w której pośredniczą przeciwciała. Pochodzące z fuzji komórek śledziony z komórkami szpiczaka NSI/1, komórki 35.1 wyrażają geny do produkcji immunoglobulin, w szczególności przeciwciał monoklonalnych przeciwko ludzkiemu CD2. Izotypem przeciwciała jest IgG2a.
Organism	Mysz
Tissue	Śledziona (pochodzenie komórek B) / Szpik kostny (partner fuzji w szpiczaku NSI/1)
Disease	Hybrydom (fuzja komórek B i komórek szpiczaka); wytwarza przeciwciało monoklonalne przeciwko ludzkiemu CD2 (Tp50)
Metastatic site	Nie dotyczy (linia komórkowa hibrydomowa; nie jest to próbka guza pierwotnego)
Applications	Produkcja przeciwciał monoklonalnych (przeciw ludzkiemu CD2, IgG2a); badania z zakresu biologii komórek T; badania nad aktywacją i proliferacją komórek T za pośrednictwem CD2; testy immunologiczne wymagające blokady CD2; badania nad cytotoksycznością; technologia hybrydomowa
Synonyms	HB-222

Charakterystyka

Breed/Subspecies	BALB/c (na tle szpiczaka NSI/1)
Age	Wiek nieokreślony
Gender	Płeć nieokreślona
Ethnicity	Nie dotyczy (linia komórkowa myszy)
Morphology	Limfoblast
Cell type	Komórki limfoblastów typu B / komórki hybrydomowe
Growth properties	Zawieszenie

35.1 Komórki | 305002**Dane regulacyjne**

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Ten hybrydom zawiera rearanżowane geny immunoglobulin pochodzące z fuzji komórki B z komórką szpiczaka. Geny łańcuchów ciężkich i lekkich IgG2a są ekspresjonowane przez partnera fuzji z komórki B. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	Immunoglobulina, przeciwciało monoklonalne przeciwko ludzkiemu CD2
---------------------------	--

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Do pożywki dodać 10% FBS oraz 0,05 mM 2-merkaptotetanolu
Dissociation Reagent	Brak
Doubling time	ok. 24–36 godzin
Subculturing	Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1×10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.
Split ratio	od 1 do 5
Seeding density	od 1 do 5×10^5 komórek/ml
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

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

Po rozmrożeniu komórki należy odwirować przy 300×g przez 5 minut, usunąć supernatant zawierający środek krioprotekcyjny, a następnie zawiesić je w świeżej, wstępnie podgrzanej pożywce kompletnej w stężeniu 1×10^5 komórek/ml. Przed pierwszym pasażowaniem należy odczekać co najmniej 24–48 godzin na regenerację i namnożenie komórek.

**Freeze
medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40–60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

35.1 Komórki | 305002

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.