

Komórki MR1 | 305000**Informacje ogólne****Description**

MR1 to linia komórek hybrydoma pochodząca z fuzji komórek śledziony z komórkami szpiczaka NS-1 po immunizacji zwierząt mysimi limfocytami T, szczególnie podtypu Th1. Komórki te wykazują ekspresję immunoglobulin, w szczególności przeciwciał monoklonalnych ukierunkowanych na mysiego liganda CD40 (CD154, znany również jako gp39 lub CD40L). Izotyp wytwarzanego przeciwciała monoklonalnego to IgG. CD154 jest kluczową częścią zaangażowaną w interakcje komórek T, szczególnie w aktywację komórek B, ponieważ jego wiązanie z CD40 na komórkach B jest niezbędne do proliferacji, różnicowania i produkcji immunoglobulin. Wiązanie to wpływa również na kostymulację komórek T i produkcję cytokin, czyniąc CD154 ważnym celem interwencji terapeutycznej w modulacji immunologicznej.

Przeciwciała pochodzące z MR1 specyficznie celują i blokują interakcję między CD154 i CD40, co ma implikacje terapeutyczne w różnych odpowiedziach immunologicznych. W szczególności, przeciwciała anti-CD154 zostały wykorzystane do wywołania braku odpowiedzi komórek T na przeszczepy narządów. Blokując interakcję CD154-CD40, przeciwciała MR1 hamują aktywację komórek T i związaną z nią odpowiedź immunologiczną, promując stan tolerancji. Strategia ta jest szczególnie cenna w zapobieganiu odrzucaniu narządów u biorców przeszczepów, ponieważ umożliwia długotrwałe przeżycie przeszczepu bez konieczności stosowania ogólnoustrojowych leków immunosupresyjnych, które mogą mieć rozległe skutki uboczne. W modelach eksperymentalnych przeciwciała MR1 wykazały zdolność do przedłużania przeżycia przeszczepu wysepek trzustkowych, co jest istotne w leczeniu cukrzycy poprzez przeszczep wysepek.

Przeciwciała MR1 są również wykorzystywane w badaniach związanych z chorobami autoimmunologicznymi, w których kluczową rolę odgrywa niewłaściwa aktywacja limfocytów T i limfocytów B poprzez interakcję CD40-CD154. Hamując te interakcje, przeciwciała MR1 mogą pomóc w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej, co czyni je potencjalnymi kandydatami do zastosowań terapeutycznych poza przeszczepami, w tym w chorobach autoimmunologicznych i niektórych zaburzeniach limfoproliferacyjnych. W literaturze badawczej i patentowej badano wykorzystanie MR1 w różnych zastosowaniach, podkreślając jego znaczenie w dziedzinie regulacji immunologicznej i rozwoju przeciwciał terapeutycznych.

Organism Komórki zwierzęce

Charakterystyka

Morphology Limfoblast

Growth properties Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation MR1 (numer katalogowy Cytion 305000)

Biosafety level 1

Komórki MR1 | 305000**NCBI_TaxID** 10090/10032**CellosaurusAccession** CVCL_8964**Dane biomolekularne****Protein expression** Immunoglobulina, przeciwciało monoklonalne przeciwko mysjemu ligandowi CD40 (CD154, CD40L, gp39)**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic pożywkę 10% FBS, 0,05 mM 2-merkaptetanolu**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** 1:2 do 1:6**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**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.

Komórki MR1 | 305000**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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MR1 | 305000

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 / Profil genetyczny / HLA

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.