

## Células MR1 | 305000

### Informações gerais

#### Description

A MR1 é uma linha de células de hibridoma derivada da fusão de células do baço com células de mieloma NS-1, após a imunização de animais com células T de ratinho, particularmente do subtipo Th1. Estas células exprimem imunoglobulina, especificamente anticorpos monoclonais que têm como alvo o ligando CD40 do rato (CD154, também conhecido como gp39 ou CD40L). O isótipo do anticorpo monoclonal produzido é IgG. O CD154 é uma molécula crucial envolvida nas interações das células T, em particular na ativação das células B, uma vez que a sua ligação ao CD40 nas células B é essencial para a proliferação, diferenciação e produção de imunoglobulinas das células B. Esta ligação também influencia o coestimulo das células T. Esta ligação também influencia a co-estimulação das células T e a produção de citocinas, tornando o CD154 um alvo importante para a intervenção terapêutica na modulação imunitária.

Os anticorpos derivados de MR1 visam especificamente e bloqueiam a interação entre CD154 e CD40, o que tem implicações terapêuticas em várias respostas imunitárias. Nomeadamente, os anticorpos anti-CD154 têm sido utilizados para induzir a falta de resposta das células T aos enxertos de órgãos em transplantes. Ao bloquear a interação CD154-CD40, os anticorpos MR1 inibem a ativação das células T e a resposta imunitária associada, promovendo um estado de tolerância. Esta estratégia é particularmente valiosa na prevenção da rejeição de órgãos em receptores de transplantes, pois permite a sobrevivência do enxerto a longo prazo sem a necessidade de imunossuppressores sistémicos, que podem ter efeitos secundários extensos. Em modelos experimentais, os anticorpos MR1 demonstraram a capacidade de prolongar a sobrevivência do enxerto de ilhotas pancreáticas, o que é significativo no tratamento da diabetes através do transplante de ilhotas.

Os anticorpos MR1 são também utilizados na investigação relacionada com as doenças auto-imunes, em que a ativação inadequada das células T e das células B através das interações CD40-CD154 desempenha um papel fundamental. Ao inibir estas interações, os anticorpos MR1 podem ajudar a modular as respostas imunitárias, tornando-os potenciais candidatos a aplicações terapêuticas para além do transplante, incluindo em doenças auto-imunes e certas doenças linfoproliferativas. A investigação e a literatura de patentes exploraram a utilização do MR1 em várias aplicações, sublinhando a sua relevância no domínio da regulação imunitária e do desenvolvimento de anticorpos terapêuticos.

**Organism** Células animais

### Caraterísticas

**Morphology** Linfoblasto

**Growth properties** Suspensão

### Dados regulamentares

**Citation** MR1 (número de catálogo Cytion 305000)

**Biosafety level** 1

**Células MR1 | 305000****NCBI\_TaxID** 10090/10032**CellosaurusAccession** CVCL\_8964**Dados biomoleculares****Protein expression** Imunoglobulina, anticorpo monoclonal, contra o ligando CD40 do rato (CD154, CD40L, gp39)**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,05 mM de 2-mercaptoetanol**Subculturing** Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco pipetando para cima e para baixo e, em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão para atingir uma concentração celular de  $1 \times 10^5$  células/ml com meio de cultura fresco e alique a suspensão ajustada em novos frascos para cultivo adicional.**Split ratio** 1:2 a 1:6**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células MR1 | 305000

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células MR1 | 305000

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.