

35.1 bunky | 305002

Všeobecné informácie

Description	35.1 sú hybridómové bunky odvodené z B-buniek Mus musculus a myelómu. Mimoriadne zaujímavá je ich reaktivita na povrchový proteín ľudských T-buniek Tp50 (CD2), čo z nich robí cenné nástroje pre cielený výskum. Protilátka produkovaná bunkami 35.1 inhibuje proliferačné reakcie a cytotoxicitu T-buniek bez toho, aby zasahovala do protilátkou sprostredkovanej bunkovej cytotoxicity. Bunky 35.1, odvodené z fúzie buniek sleziny s myelómovými bunkami NSI/1, exprimujú gény pre produkciu imunoglobulínov, konkrétne monoklonálnych protilátok proti ľudskému CD2. Izotyp protilátky je IgG2a.
Organism	Myš
Tissue	Slezina (pôvod B-buniek) / Kostná dreň (fúzny partner pri myelóme NSI/1)
Disease	Hybridóm (fúzia B-buniek a myelómu); produkuje monoklonálnu protilátku proti ľudskému CD2 (Tp50)
Metastatic site	Neplatí (hybridómová bunková línia; nejde o vzorku primárneho nádoru)
Applications	Výroba monoklonálnych protilátok (proti ľudskému CD2, IgG2a); výskum biológie T-buniek; štúdie aktivácie a proliferácie T-buniek sprostredkované CD2; imunologické testy vyžadujúce blokádu CD2; výskum cytotoxicity; technológia hybridómov
Synonyms	HB-222

Charakteristika

Breed/Subspecies	BALB/c (na pozadí myelómu NSI/1)
Age	Vek nešpecifikovaný
Gender	Pohlavie nešpecifikované
Ethnicity	Neplatí (myšia bunková línia)
Morphology	Lymfoblast
Cell type	B-lymfoblastové / hybridómové bunky
Growth properties	Pozastavenie

Regulačné údaje

35.1 bunky | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Tento hybridóm obsahuje preradené gény imunoglobulínov pochádzajúce z fúzie B-buniek a myelómu. Gény ťažkých a ľahkých reťazcov IgG2a sú exprimované z fúzného partnera B-buniek. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Imunoglobulín, monoklonálna protilátka proti ľudskému CD2
---------------------------	---

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Do živného média pridajte 10 % FBS a 0,05 mM 2-merkaptotetanolu
Dissociation Reagent	Žiadne
Doubling time	približne 24 až 36 hodín
Subculturing	Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	$1 \text{ až } 5 \times 10^5$ buniek/ml
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

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

Po rozmrazení odstředte bunky při 300×g po dobu 5 minut, odstraňte supernatant obsahující kryoprotektant a bunky resuspendujte v čerstvém, vopred zahriatom kompletnom médiu v koncentrácii 1×10^5 buniek/ml. Pred prvým pasážovaním nechajte bunky aspoň 24–48 hodín na zotavenie a rozmnoženie.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

35.1 bunky | 305002

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.