

Celice MR1 | 305000

Splošne informacije

Description

MR1 je hibridomska celična linija, pridobljena z združitvijo celic vranice z mielomskimi celicami NS-1 po imunizaciji živali z mišjimi celicami T, zlasti podtipa Th1. Te celice izražajo imunoglobulin, zlasti monoklonska protitelesa, usmerjena na mišji ligand CD40 (CD154, znan tudi kot gp39 ali CD40L). Izotip proizvedenega monoklonskega protitelesa je IgG. CD154 je ključna molekula, ki sodeluje v interakcijah med celicami T, zlasti pri aktivaciji celic B, saj je njegova vezava na CD40 na celicah B bistvena za proliferacijo, diferenciacijo in proizvodnjo imunoglobulinov. Ta vezava vpliva tudi na kostimulacijo celic T in proizvodnjo citokinov, zato je CD154 pomembna tarča za terapevtske posege pri imunski modulaciji.

Protitelesa, pridobljena iz MR1, so specifično usmerjena v interakcijo med CD154 in CD40 ter jo blokirajo, kar ima terapevtske posledice pri različnih imunskih odzivih. Predvsem protitelesa proti CD154 so se uporabljala za povzročanje neodzivnosti celic T na presadke organov pri presaditvi. Z blokado interakcije CD154-CD40 protitelesa MR1 zavirajo aktivacijo celic T in s tem povezan imunski odziv ter spodbujajo stanje tolerance. Ta strategija je še posebej dragocena pri preprečevanju zavrnitve organa pri prejemnikih presadka, saj omogoča dolgoročno preživetje presadka brez potrebe po sistemskih imunosupresivih, ki imajo lahko obsežne stranske učinke. V eksperimentalnih modelih so protitelesa MR1 dokazala sposobnost podaljšanja preživetja presadka pankreatičnih otočkov, kar je pomembno pri zdravljenju sladkorne bolezni s presaditvijo otočkov.

Protitelesa MR1 se uporabljajo tudi v raziskavah, povezanih z avtoimunskimi boleznimi, pri katerih ima neustrezna aktivacija celic T in celic B prek interakcij CD40-CD154 ključno vlogo. Z zaviranjem teh interakcij lahko protitelesa MR1 pomagajo modulirati imunske odzive, zaradi česar so potencialni kandidati za terapevtsko uporabo zunaj presaditve, vključno z avtoimunskimi boleznimi in nekaterimi limfoproliferativnimi motnjami. V raziskovalni in patentni literaturi je raziskana uporaba MR1 v različnih aplikacijah, kar poudarja njegov pomen na področju imunske regulacije in razvoja terapevtskih protiteles.

Organism Živalske celice

Značilnosti

Morphology Limfoblast

Growth properties Vzmetenje

Regulativni podatki

Citation MR1 (katalogska številka Cytion 305000)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090/10032

CellosaurusAccession CVCL_8964

Celice MR1 | 305000

Biomolekularni podatki

Protein expression Imunoglobulin, monoklonsko protitelo, proti mišjemu ligandu CD40 (CD154, CD40L, gp39)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 0,05 mM 2-merkaptioetanol

Subculturing Nežno homogenizirajte celično suspenzijo v kolbi s pipetiranjem navzgor in navzdol, nato odzemite reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na ml. Suspenzijo razredčite, da dosežete koncentracijo celic 1×10^5 celic/ml s svežim kultiviranim medijem, in prilagojeno suspenzijo razdelite v nove kolbe za nadaljnje gojenje.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice MR1 | 305000

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MR1 | 305000

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.