

35.1 Hücreler | 305002

Genel bilgi

Description	35.1 Mus musculus B hücresi ve miyelomdan türetilen hibridoma hücreleridir. İnsan T hücresi yüzey proteini Tp50'ye (CD2) karşı reaktiviteleri özellikle ilgi çekicidir ve bu da onları hedefe yönelik araştırmalar için değerli araçlar haline getirmektedir. 35.1 hücreleri tarafından üretilen antikor, antikor aracılı hücresel sitotoksisiteye müdahale etmeden T hücresi proliferatif yanıtlarını ve sitotoksisiteyi inhibe eder. Dalak hücrelerinin NSI/1 miyelom hücreleriyle füzyonundan türetilen 35.1 hücreleri, immüoglobulin üretimi için genleri, özellikle de insan CD2'sine karşı monoklonal antikorları ifade eder. Antikorum izotipi IgG2a'dır.
Organism	Fare
Tissue	Dalak (B hücresi kökenli) / Kemik iliği (NSI/1 miyelom füzyon ortağı)
Disease	Hibridoma (B hücresi × miyelom füzyonu); insan CD2'ye karşı monoklonal antikor üretir (Tp50)
Metastatic site	Uygulanamaz (hibridoma hücre hattı; birincil tümör örneği değildir)
Applications	Monoklonal antikor üretimi (anti-insan CD2, IgG2a); T hücresi biyolojisi araştırmaları; CD2 aracılı T hücresi aktivasyonu ve proliferasyonu çalışmaları; CD2 blokajı gerektiren immünojenik testler; sitotoksisite araştırmaları; hibridoma teknolojisi
Synonyms	HB-222

Özellikler

Breed/Subspecies	BALB/c (NSI/1 miyelom arka planı)
Age	Yaş belirtilmemiş
Gender	Cinsiyet belirtilmemiş
Ethnicity	Uygulanamaz (fare hücre hattı)
Morphology	Lenfoblast
Cell type	B lenfoblast / hibridoma hücreleri
Growth properties	Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

35.1 Hücreler | 305002

Citation	1
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7239
GMO Status	GMO-S1: Bu hibridoma, bir B hücresi-miyelom füzyonundan kaynaklanan yeniden düzenlenmiş immüoglobulin genlerini içerir. IgG2a ağır ve hafif zincir genleri, B hücresi füzyon ortağı tarafından eksprese edilir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya'da geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression	İnsan CD2'sine karşı immüoglobulin, monoklonal antikor
--------------------	--

Elleçleme

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820700a)
Supplements	Besiyerine %10 FBS ve 0,05 mM 2-merkaptetanol ekleyin
Dissociation Reagent	Yok
Doubling time	yaklaşık 24 ila 36 saat
Subculturing	Şişedeki hücre süspansiyonunu pipetle yukarı aşağı hareket ettirerek nazıkçe homojenleştirin, ardından ml başına hücre yoğunluğunu belirlemek için temsili bir numune alın. Süspansiyonu, 1×10^5 hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşmak için taze kültür ortamı ile seyreltin ve ayarlanan süspansiyonu daha fazla kültürlenme için yeni şişelere bölün.
Split ratio	1'den 5'e kadar
Seeding density	1 ila 5×10^5 hücre/ml
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez

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

Çözüldükten sonra, hücreleri 300×g'de 5 dakika boyunca santrifüjleyin, kriyoprotektan içeren süpernatantı uzaklaştırın ve 1×10^5 hücre/ml konsantrasyonunda önceden ısıtılmış taze tam besiyerinde yeniden süspansiyon haline getirin. İlk pasajlama adımından önce, hücrelerin toparlanması ve çoğalması için en az 24–48 saat bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C 'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C 'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C , %5 CO_2 , nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78°C 'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

35.1 Hücreler | 305002

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.