

## 35.1 Клітини | 305002

## Загальна інформація

|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b>     | 35.1 - це клітини-гібриди, отримані з В-клітини м'яза <i>Mus musculus</i> та мієломи. Особливий інтерес становить їхня реактивність до поверхневого білка Т-лімфоцитів людини Tr50 (CD2), що робить їх цінним інструментом для цілеспрямованих досліджень. Антитіло, що виробляється клітинами 35.1, пригнічує проліферативну реакцію та цитотоксичність Т-клітин, не втручаючись в опосередковану антитілами клітинну цитотоксичність. Отримані шляхом злиття клітин селезінки з клітинами мієломи NSI/1, клітини 35.1 експресують гени для виробництва імуноглобулінів, зокрема моноклональних антитіл проти людського CD2. Ізотип антитіл - IgG2a. |
| <b>Organism</b>        | Миша                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Tissue</b>          | Селезінка (походження з В-клітин) / Кістковий мозок (партнер по злиттю при мієломі NSI/1)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Disease</b>         | Гібридома (злиття В-клітин і мієломних клітин); продукує моноклональне антитіло проти людського CD2 (Tr50)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Metastatic site</b> | Не застосовується (клітинна лінія гібридом; це не зразок первинної пухлини)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Applications</b>    | Виробництво моноклональних антитіл (проти людського CD2, IgG2a); дослідження в галузі біології Т-клітин; дослідження активації та проліферації Т-клітин, опосередкованих CD2; імунологічні аналізи, що вимагають блокади CD2; дослідження цитотоксичності; технологія гібридом                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Synonyms</b>        | HB-222                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

## Характеристики

|                          |                                         |
|--------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Breed/Subspecies</b>  | BALB/c (на тлі мієломи NSI/1)           |
| <b>Age</b>               | Вік не вказано                          |
| <b>Gender</b>            | Стать не визначена                      |
| <b>Ethnicity</b>         | Не застосовується (клітинна лінія миші) |
| <b>Morphology</b>        | Лімфобласт                              |
| <b>Cell type</b>         | В-лімфобласти / гібридоми               |
| <b>Growth properties</b> | Підвіска                                |

## 35.1 Клітини | 305002

## Нормативні дані

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Citation             | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Biosafety level      | 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| NCBI_TaxID           | 10090                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| CellosaurusAccession | CVCL_7239                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| GMO Status           | GMO-S1: Ця гібридома містить реорганізовані гени імунoglobulinу, отримані в результаті злиття В-клітини з мієломою. Гени важких і легких ланцюгів IgG2a експресуються з боку В-клітини-партнера по злиттю. Ця класифікація застосовується лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах. |

## Біомолекулярні дані

|                    |                                                         |
|--------------------|---------------------------------------------------------|
| Protein expression | Імунoglobulin, моноклональне антитіло, проти CD2 людини |
|--------------------|---------------------------------------------------------|

## Обробка

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Culture Medium       | RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO <sub>3</sub> (номер за каталожним номером 820700a)                                                                                                                                                                                                                           |
| Supplements          | Додайте до середовища 10 % FBS та 0,05 мМ 2-меркаптоетанолу                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Dissociation Reagent | Ні                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Doubling time        | приблизно від 24 до 36 годин                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Subculturing         | Акуратно гомогенізуйте суспензію клітин у колбі, піпетуючи її вгору і вниз, а потім візьміть репрезентативну пробу для визначення щільності клітин на мл. Розведіть суспензію свіжим культуральним середовищем до концентрації $1 \times 10^5$ клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію в нові колби для подальшого культивування. |
| Split ratio          | від 1 до 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Seeding density      | від 1 до $5 \times 10^5$ клітин/мл                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

**35.1 Клітини | 305002****Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery**

Після розморожування відцентрифугуйте клітини при 300×g протягом 5 хвилин, видаліть супернатант, що містить кріопротектор, і ресуспендуйте клітини у свіжому, попередньо підігрітому повноцінному середовищі з концентрацією  $1 \times 10^5$  клітин/мл. Перед першим пасажуванням дайте клітинам щонайменше 24–48 годин на відновлення та розмноження.

**Freeze medium**

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

## 35.1 Клітини | 305002

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, волога атмосфера.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості та молекулярний аналіз

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.