

**35.1 Cellules | 305002****Renseignements généraux**

|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b>     | Les cellules 35.1 sont des cellules d'hybridome dérivées d'une cellule B de Mus musculus et d'un myélome. Leur réactivité à la protéine de surface des cellules T humaines Tp50 (CD2) présente un intérêt particulier, ce qui en fait des outils précieux pour la recherche ciblée. L'anticorps produit par les cellules 35.1 inhibe les réponses prolifératives des cellules T et leur cytotoxicité sans interférer avec la cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps. Issues de la fusion de cellules spléniques avec des cellules de myélome NSI/1, les cellules 35.1 expriment des gènes codant pour la production d'immunoglobulines, plus précisément des anticorps monoclonaux dirigés contre le CD2 humain. L'isotype de l'anticorps est l'IgG2a. |
| <b>Organism</b>        | Souris                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Tissue</b>          | Rate (d'origine lymphoïde B) / Moelle osseuse (partenaire de fusion du myélome NSI/1)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Disease</b>         | Hybridome (fusion entre une cellule B et une cellule de myélome); produit un anticorps monoclonal dirigé contre le CD2 humain (Tp50)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Metastatic site</b> | Sans objet (lignée cellulaire d'hybridome; il ne s'agit pas d'un échantillon de tumeur primaire)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Applications</b>    | Production d'anticorps monoclonaux (anti-CD2 humain, IgG2a); recherche en biologie des cellules T; études sur l'activation et la prolifération des cellules T médiées par le CD2; tests immunologiques nécessitant un blocage du CD2; recherche sur la cytotoxicité; technologie des hybridomes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Synonyms</b>        | HB-222                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

**Caractéristiques**

|                          |                                                     |
|--------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>Breed/Subspecies</b>  | BALB/c (fond de myélome NSI/1)                      |
| <b>Age</b>               | Âge non précisé                                     |
| <b>Gender</b>            | Sexe non précisé                                    |
| <b>Ethnicity</b>         | Sans objet (lignée cellulaire de souris)            |
| <b>Morphology</b>        | Lymphoblaste                                        |
| <b>Cell type</b>         | Cellules lymphoblastiques B / cellules d'hybridomes |
| <b>Growth properties</b> | Suspension                                          |

**35.1 Cellules | 305002****Données réglementaires**

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Biosafety level</b>      | 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 10090                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_7239                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>GMO Status</b>           | GMO-S1 : Cet hybridome contient des gènes d'immunoglobulines réarrangés issus d'une fusion entre une cellule B et un myélome. Les gènes des chaînes lourdes et légères d'IgG2a sont exprimés par le partenaire de fusion issu de la cellule B. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs. |

**Données biomoléculaires**

|                           |                                                                    |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Protein expression</b> | Immunoglobuline, anticorps monoclonal, dirigé contre le CD2 humain |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------|

**Manipulation**

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b>       | RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO <sub>3</sub> (numéro d'article Cytion 820700a)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Supplements</b>          | Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,05 mM de 2-mercaptoéthanol                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Aucun                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Doubling time</b>        | environ 24 à 36 heures                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Subculturing</b>         | Homogénéisez délicatement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélevez un échantillon représentatif afin de déterminer la densité cellulaire par mL. Diluez la suspension avec du milieu de culture frais jusqu'à obtenir une concentration cellulaire de $1 \times 10^5$ cellules/mL, puis répartissez la suspension ajustée en aliquotes dans de nouveaux flacons en vue de la poursuite de la culture. |
| <b>Split ratio</b>          | 1 à 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Seeding density</b>      | de $1$ à $5 \times 10^5$ cellules/mL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

## 35.1 Cellules | 305002

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

### Post-Thaw Recovery

Après décongélation, centrifuger les cellules à 300 × g pendant 5 minutes, retirer le surnageant contenant le cryoprotecteur, puis remettre les cellules en suspension dans un milieu complet frais et préchauffé à une concentration de  $1 \times 10^5$  cellules/ml. Prévoir au moins 24 à 48 heures pour la récupération et la multiplication avant la première étape de repiquage.

### Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 × g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

## 35.1 Cellules | 305002

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %<sub>de</sub> CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.