

Buňky COX | 302138

Obecné informace

Description

Buněčná linie COX je referenční B-lymfoblastická buněčná linie (B-LCL) odvozená od lidského dárce a transformovaná virem Epstein-Barr (EBV). Je často používána v imunogenetice a výzkumu histokompatibilitu díky svému zařazení do panelů Mezinárodní pracovní skupiny pro histokompatibilitu (IHWG). Buněčná linie COX reprezentuje specifický haplotyp hlavního histokompatibilního komplexu (MHC), HLA-A1-B8-Cw7-DR3-DQ2, spojený s náchylností k autoimunitním onemocněním, jako je diabetes 1. typu, systémový lupus erythematosus a myasthenia gravis. Tento haplotyp se vyznačuje vysokým stupněm vazebné nerovnováhy, což z buněčné linie činí základní model pro studium genetických asociací souvisejících s MHC.

V rámci projektu MHC Haplotype Project byla kompletně charakterizována genomická sekvence haplotypu COX. Rozkládá se na ploše přibližně 4,8 Mb a zahrnuje oblasti MHC I., II. a III. třídy a také rozšířenou oblast I. třídy. Podrobné sekvenování odhalilo více než 16 000 jednonukleotidových polymorfismů (SNP) a četné strukturální odchylky, což umožnilo nahlédnout do genetické architektury této oblasti. Komplexní charakterizace MHC buněčné linie COX z ní činí klíčový zdroj pro pochopení funkce imunitního systému a genetického základu chorob spojených s HLA.

Ve výzkumu se buněčná linie COX používá k jemnému mapování lokusů v rámci MHC souvisejících s nemocemi a také k funkčním studiím zpracování a prezentace antigenů. Její dobře definovaný genetický profil umožňuje srovnávací studie s jinými haplotypy MHC, což napomáhá identifikaci rizikových variant onemocnění a potenciálních terapeutických cílů. Kromě toho se tato buněčná linie podílí na hodnocení nových technologií sekvenování a genotypování a slouží jako standardní reference v imunogenetických studiích.

Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	Burkittův lymfom
Synonyms	LCL (DR3)

Charakteristika

Age	Věk nespecifikován
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Kulaté buňky
Cell type	B lymfoblast

Buňky COX | 302138

Growth properties Zavěšení

Regulační údaje

Citation COX (katalogové číslo Cytion 302138)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E534

Biomolekulární data

Viruses Transformované EBV

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS

Subculturing Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.

Seeding density 5×10^5 buněk/cm²

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^5 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky COX | 302138**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky COX | 302138

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.