

COX-solut | 302138

Yleisiä tietoja

Description

COX-solulinja on ihmisen luovuttajasta peräisin oleva B-lymfoblastoidinen solulinja (B-LCL), joka on muunnettu Epstein-Barr-viruksella (EBV). Sitä käytetään usein immunogenetiikassa ja histokompatibiliteettitutkimuksissa, koska se kuuluu kansainvälisen histokompatibiliteettiryhmän (IHWG) paneeleihin. COX-solulinja edustaa tiettyä päähistokompatibiliteettikompleksin (MHC) haplotyyppiä HLA-A1-B8-Cw7-DR3-DQ2, joka liittyy alttiuteen autoimmuunisairauksille, kuten tyypin 1 diabetekselle, systeemiselle lupus erythematosukselle ja myasthenia gravisille. Tämä haplotyyppi on merkittävä sen korkean linkitysepätasapainoasteen vuoksi, mikä tekee solulinjasta olennaisen tärkeän mallin MHC:hen liittyvien geneettisten assosiaatioiden tutkimiseen.

COX-haplotyyppin genominen sekvenssi on täysin karakterisoitu osana MHC-haplotyyppihanketta. Se kattaa noin 4,8 Mb:n alueen, joka kattaa MHC:n luokan I, II ja III alueet sekä laajennetun luokan I alueen. Yksityiskohtainen sekvensointi paljasti yli 16 000 yksittäisen nukleotidin polymorfismia (SNP) ja lukuisia rakenteellisia vaihteluita, jotka antavat tietoa tämän alueen geneettisestä rakenteesta. COX-solulinjan kattava MHC-luonnehdinta tekee siitä keskeisen resurssin immuunijärjestelmän toiminnan ja HLA-assosioituneiden sairauksien geneettisen perustan ymmärtämisessä.

Tutkimuksessa COX-solulinjaa käytetään MHC:n sairauksiin liittyvien lokusten hienokartoitukseen sekä antigeneien prosessointia ja esittämistä koskeviin toiminnallisiin tutkimuksiin. Sen hyvin määritelty geneettinen profiili mahdollistaa vertailututkimukset muiden MHC-haplotyyppien kanssa, mikä auttaa tunnistamaan sairauden riskivariantteja ja mahdollisia terapeuttisia kohteita. Lisäksi solulinja osallistuu uusien sekvensointi- ja genotyypinmäärittystekniikoiden arviointiin, ja se toimii vakioreferenssinä immunogeneettisissä tutkimuksissa.

Organism Ihminen

Tissue Perifeerinen veri

Disease Burkittin lymfooma

Synonyms LCL (DR3)

Ominaisuudet

Age Ikä määrittelemätön

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Pyöreät kennot

Cell type B-lymfoblasti

COX-solut | 302138

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation COX (Cytionin luettelonumero 302138)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E534

Biomolekyyli tiedot

Viruses EBV:n muuntama

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä

Subculturing Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1×10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.

Seeding density 5×10^5 solua/cm²

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^5 solua/cm² ja anna solujen toipua jäädyttämisprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

COX-solut | 302138

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

COX-solut | 302138

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.