

COX-cellen | 302138

Algemene informatie

Description

De COX-cel lijn is een referentie B-lymfoblastoïde cellijn (B-LCL) afkomstig van een menselijke donor en getransformeerd met Epstein-Barr virus (EBV). Ze wordt vaak gebruikt in immunogenetica en histocompatibiliteitsonderzoek omdat ze is opgenomen in de panels van de International Histocompatibility Working Group (IHWG). De COX cellijn vertegenwoordigt een specifiek major histocompatibility complex (MHC) haplotype, HLA-A1-B8-Cw7-DR3-DQ2, geassocieerd met gevoeligheid voor auto-immuunziekten zoals type 1 diabetes, systemische lupus erythematosus en myasthenia gravis. Dit haplotype valt op door de hoge mate van linkage disequilibrium, waardoor de cellijn een essentieel model is voor het bestuderen van MHC-gerelateerde genetische associaties.

De genomsequentie van het COX haplotype is volledig gekarakteriseerd als onderdeel van het MHC Haplotype Project. Het omvat ongeveer 4,8 Mb en omvat de klasse I, II en III regio's van de MHC, evenals de uitgebreide klasse I regio. Gedetailleerde sequentie bepaling onthulde meer dan 16.000 single nucleotide polymorfismen (SNP's) en talloze structurele variaties, wat inzicht geeft in de genetische architectuur van deze regio. De uitgebreide MHC-karakterisering van de COX cellijn maakt het een belangrijke bron voor het begrijpen van de functie van het immuunsysteem en de genetische basis van HLA-geassocieerde ziekten.

In onderzoek wordt de COX cellijn gebruikt voor het nauwkeurig in kaart brengen van ziekte-geassocieerde loci binnen het MHC en voor functionele studies naar antigeenverwerking en -presentatie. Het goed gedefinieerde genetische profiel maakt vergelijkende studies met andere MHC haplotypes mogelijk, wat helpt bij de identificatie van risicovarianten voor ziekten en potentiële therapeutische doelwitten. Daarnaast is de cellijn betrokken bij de evaluatie van nieuwe sequentie- en genotyperingstechnologieën en dient het als standaardreferentie in immunogenetische studies.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Burkitt lymfoom

Synonyms

LCL (DR3)

Kenmerken

Age

Leeftijd onbepaald

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Ronde cellen

Cell type

B lymfoblast

COX-cellen | 302138

Growth properties Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation COX (Cytion catalogusnummer 302138)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E534

Biomoleculaire gegevens

Viruses Getransformeerd door EBV

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS

Subculturing Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van 1×10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.

Seeding density 5×10^5 cellen/cm²

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, zaai de cellen uit op 5×10^5 cellen/cm² en laat de cellen minstens 24 uur herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

COX-cellen | 302138

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

COX-cellen | 302138

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.