

COX-celler | 302138

Generell informasjon

Description

COX-cellelinjen er en referanse B-lymfoblastoid cellelinje (B-LCL) som stammer fra en human donor og er transformert med Epstein-Barr-virus (EBV). Den brukes ofte i immunogenetisk forskning og histokompatibilitetsforskning fordi den er inkludert i International Histocompatibility Working Group (IHWG)-panelene. COX-cellelinjen representerer en spesifikk haplotype i det store histokompatibilitetskomplekset (MHC), HLA-A1-B8-Cw7-DR3-DQ2, som er forbundet med mottakelighet for autoimmune sykdommer som type 1-diabetes, systemisk lupus erythematosus og myasthenia gravis. Denne haplotypen er kjent for sin høye grad av koblingsulikhet, noe som gjør cellelinjen til en viktig modell for å studere MHC-relaterte genetiske assosiasjoner.

Den genomiske sekvensen til COX-haplotypen har blitt fullstendig karakterisert som en del av MHC-haplotypeprosjektet. Den spenner over ca. 4,8 Mb og omfatter klasse I-, II- og III-regionene i MHC, samt den utvidede klasse I-regionen. Detaljert sekvensering avdekket over 16 000 enkelt nukleotidpolymorfismer (SNP-er) og en rekke strukturelle variasjoner, noe som gir innsikt i den genetiske arkitekturen i denne regionen. COX-cellelinjens omfattende MHC-karakterisering gjør den til en nøkkelressurs for å forstå immunsystemets funksjon og det genetiske grunnlaget for HLA-assosierte sykdommer.

I forskning brukes COX-cellelinjen til finkartlegging av sykdomsassosierte loci i MHC, samt til funksjonelle studier av antigenprosessering og -presentasjon. Den veldefinerte genetiske profilen gjør det mulig å sammenligne cellelinjen med andre MHC-haplotyper, noe som bidrar til identifisering av sykdomsrisikovarianter og potensielle terapeutiske mål. I tillegg er cellelinjen involvert i evalueringen av nye sekvenserings- og genotypingsteknologier, og fungerer som en standardreferanse i immunogenetiske studier.

Organism Menneskelig

Tissue Perifert blod

Disease Burkitt-lymfom

Synonyms LCL (DR3)

Kjennetegn

Age Uspesifisert alder

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Runde celler

Cell type B-lymfoblast

COX-celler | 302138

Growth properties Oppheng

Regulatoriske data

Citation COX (Cytion katalognummer 302138)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E534

Biomolekylære data

Viruses Transformert av EBV

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS

Subculturing Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celledettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på 1×10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.

Seeding density 5×10^5 celler/cm²

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^5 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

COX-celler | 302138

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

COX-celler | 302138

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.