

PLH buňky | 302137

Obecné informace

Description

Buněčná linie PLH je lidská lymfoblastoidní buněčná linie transformovaná virem Epsteina-Barrové (EBV) a získaná od pacienta s kongenitální adrenální hyperplazií (CAH) v důsledku deficitu steroidní 21-hydroxylázy (21-OHázy). Tato autozomálně recesivní porucha, která narušuje biosyntézu kortizolu, je silně vázána na specifické haplotypy HLA, zejména HLA-Bw47;DR7. Linie PLH je homozygotní pro tento haplotyp a byla použita jako genetický model pro zkoumání molekulární podstaty deficitu 21-OHázy. Je obzvláště cenná při studiu genových delecí postihujících gen cytochromu P-450C21, který je zodpovědný za 21-hydroxylaci, což je klíčový krok při produkci kortizolu. Molekulární analýzy pomocí DNA sond potvrdily, že PLH buňky vykazují homozygotní delecí jednoho ze dvou genů P-450C21, což odpovídá ztrátě aktivity 21-hydroxylázy pozorované u postižených jedinců.

Buněčná linie PLH byla součástí panelu 4AOHW (Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop), jehož cílem bylo poskytnout dobře charakterizovaný soubor lymfoblastoidních buněčných linií transformovaných EBV, které reprezentují různé alely a haplotypy MHC. Tyto panely slouží jako základní zdroje pro studie histokompatibility, vývoj typizace HLA a imunogenetický výzkum. Výběr PLH pro zařazení do 4AOHW odráží jeho jedinečný genotyp MHC a význam pro onemocnění, což přispívá jak ke standardizaci přiřazení alel HLA, tak ke studium zkoumajícím genetickou architekturu poruch souvisejících s imunitou.

Organism

Člověk

Tissue

Nadledvinky

Disease

Klasická vrozená hyperplazie nadledvin způsobená deficitem 21-hydroxylázy

Metastatic site

Periferní krev

Charakteristika

Age

Nespecifikováno

Gender

Ženy

Ethnicity

Skandinávské

Morphology

Lymfoblasty

Cell type

B Cell

Growth properties

Zavěšení

Regulační údaje

PLH buňky | 302137

Citation	PLH (katalogové číslo Cytion 302137)
-----------------	--------------------------------------

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_E810
-----------------------------	-----------

Biomolekulární data

Viruses	Virus Epsteina-Barrové (EBV)
----------------	------------------------------

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Subculturing	Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů a poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení hustoty buněk na ml. Zředte suspenzi tak, abyste dosáhli koncentrace buněk 1×10^5 buněk/ml s čerstvým kultivačním médiem, a upravenou suspenzi alikvotně rozdělte do nových baněk pro další kultivaci.
---------------------	--

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium použijte 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 vyvolaného kryo.
----------------------	--

PLH buňky | 302137

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 odstředujte při $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

PLH buňky | 302137

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.

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.