

Κύτταρα PLH | 302137

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά PLH είναι μια μετασχηματισμένη από τον ιό Epstein-Barr (EBV) ανθρώπινη λεμφοβλαστοειδής κυτταρική σειρά που προέρχεται από ασθενή με συγγενή υπερπλασία των επινεφριδίων (CAH) λόγω ανεπάρκειας της στεροειδούς 21-υδροξυλάσης (21-OHase). Αυτή η αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή, η οποία εξασθενεί τη βιοσύνθεση της κορτιζόλης, συνδέεται στενά με συγκεκριμένους απλότυπους HLA, ιδίως με HLA-Bw47;DR7. Η γραμμή PLH είναι ομόζυγη για αυτόν τον απλότυπο και έχει χρησιμοποιηθεί ως γενετικό μοντέλο για τη διερεύνηση της μοριακής βάσης της ανεπάρκειας της 21-OHase. Είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για τη μελέτη γονιδιακών διαγραφών που επηρεάζουν το γονίδιο του κυτοχρώματος P-450C21, το οποίο είναι υπεύθυνο για την 21-υδροξυλίωση, ένα κρίσιμο βήμα στην παραγωγή κορτιζόλης. Οι μοριακές αναλύσεις με τη χρήση ανιχνευτών DNA επιβεβαίωσαν ότι τα κύτταρα PLH παρουσιάζουν ομόζυγη διαγραφή του ενός από τα δύο γονίδια P-450C21, γεγονός που συνάδει με την απώλεια της δραστικότητας της 21-υδροξυλάσης που παρατηρείται στα προσβεβλημένα άτομα.

Η κυτταρική σειρά PLH αποτελούσε μέρος του πάνελ του Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW), το οποίο αποσκοπούσε στην παροχή ενός καλά χαρακτηρισμένου συνόλου μετασχηματισμένων με EBV λεμφοβλαστοειδών κυτταρικών σειρών που αντιπροσωπεύουν ποικίλα αλληλόμορφα MHC και απλότυπους. Αυτά τα πάνελ χρησιμεύουν ως βασικοί πόροι για μελέτες ιστοσυμβατότητας, ανάπτυξη τυποποίησης HLA και έρευνα ανοσογενετικής. Η επιλογή του PLH για ένταξη στο 4AOHW αντανακλά τον μοναδικό γονότυπο MHC και τη σημασία του για τη νόσο, συμβάλλοντας τόσο στην τυποποίηση των αντιστοιχίσεων αλληλομόρφων HLA όσο και στις μελέτες που διερευνούν τη γενετική αρχιτεκτονική των διαταραχών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Επινεφρίδιο αδένας

Disease

Κλασική συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων λόγω ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης

Metastatic site

Περιφερικό αίμα

Χαρακτηριστικά

Age

Απροσδιόριστο

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Σκανδιναβική

Morphology

Λεμφοβλάστες

Cell type

B Κύτταρο

Κύτταρα PLH | 302137

Growth properties Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation PLH (αριθμός καταλόγου Cytion 302137)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E810

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses Ιός Epstein-Barr (EBV)

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Subculturing Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με κινήσεις πιπέττας πάνω-κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα με φρέσκο μέσο καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί συγκέντρωση κυττάρων 1×10^5 κύτταρα/ml και μεταφέρετε το αραιωμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιήστε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα PLH | 302137

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα PLH | 302137

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.