

## PLH rakud | 302137

## Üldine teave

## Description

PLH rakuliin on Epstein-Barri viiruse (EBV) transformeeritud inimese lümfoblastoidide rakuliin, mis on saadud patsiendilt, kellel on steroidide 21-hüdroksülaasi (21-OHase) puudulikkuse tõttu kaasasündinud neerupealiste hüperplaasia (CAH). See autosoomne retsessiivne häire, mis kahjustab kortisooli biosünteesi, on tugevalt seotud spetsiifiliste HLA-haplotüüpidega, eriti HLA-Bw47;DR7. PLH liin on selle haplotüübi suhtes homosügootne ja seda on kasutatud geneetilise mudelina 21-OHase puudulikkuse molekulaarse aluse uurimiseks. Eriti väärtuslik on see geenideleetsioonide uurimiseks, mis mõjutavad tsütokroom P-450C21 geeni, mis vastutab 21-hüdroksüülimise eest, mis on oluline etapp kortisooli tootmisel. Molekulaaranalüüsid DNA-sondide abil kinnitasid, et PLH-rakkudes on homosügootne deleetsioon ühes kahest P-450C21 geenist, mis on kooskõlas 21-hüdroksülaasi aktiivsuse kadumisega, mida on täheldatud mõjutatud isikutel.

PLH rakuliin oli osa neljandast Aasia-Okeania histokompatibility Workshop (4AOHW) paneelist, mille eesmärk oli pakkuda hästi iseloomustatud EBV-transformeeritud lümfoblastoidsete rakuliinide komplekti, mis esindavad erinevaid MHC-allele ja haplotüüpe. Need paneelid on olulised ressursid histokompatistentsuse uuringutes, HLA-tüüpide väljatöötamisel ja immunogeneetika uurimisel. PLH valimine 4AOHW-sse lisamiseks kajastab selle ainulaadset MHC-genotüüpi ja haiguste tähtsust, aidates kaasa nii HLA alleelide määramise standardimisele kui ka immuunsüsteemiga seotud haiguste geneetilist struktuuri uurivatele uuringutele.

## Organism

Inimene

## Tissue

Neerupealise nääre

## Disease

21-hüdroksülaasi puudulikkusest tingitud klassikaline kaasasündinud neerupealise hüperplaasia

## Metastatic site

Perifeerne veri

## Omadused

## Age

Täpsustamata

## Gender

Naised

## Ethnicity

Skandinaavia

## Morphology

Lümfoblastid

## Cell type

B rakk

## Growth properties

Peatamine

## PLH rakud | 302137

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	PLH (Cytioni katalooginumber 302137)
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_E810

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Viruses</b>	Epstein-Barri viirus (EBV)
----------------	----------------------------

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
<b>Subculturing</b>	Homogeniseerige rakususpensioon kolvis õrnalt, pipeteerides üles-alla, ning võtke seejärel representatiivne proov, et määrata rakutihedus milliliitri kohta. Lahjendage suspensiooni värske kasvatuskonnaga, kuni saavutatakse rakukontsentratsioon $1 \times 10^5$ rakku/ml, ning jaotage kohandatud suspensioon alikvootidena uutesse kolvidesse edasiseks kasvatamiseks.
<b>Freeze medium</b>	Krüsosäilitusvedelikuna kasutage täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## PLH rakud | 302137

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## PLH rakud | 302137

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.