

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 deletsioon 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, Kaukaasia

Morphology Lümfoblastid

Cell type B rakk

Growth properties Peatamine

PLH rakud | 302137

Regulatiivsed andmed

Citation	PLH (Cytioni katalooginumber 302137)
-----------------	--------------------------------------

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

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

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Epstein-Barri viirus (EBV)
----------------	----------------------------

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

Subculturing	Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.
---------------------	--

Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena kasutame 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 raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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 söötme keskkond 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% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**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.