

PLH-solut | 302137

Yleisiä tietoja

Description

PLH-solulinja on Epstein-Barr-viruksen (EBV) transformoima ihmisen lymfoblastoidisolulinja, joka on peräisin potilaalta, jolla on steroidien 21-hydroksylaasin (21-OHase) puutoksesta johtuva synnynnäinen lisämunuaisen hyperplasia (CAH). Tämä autosomaalinen resessiivinen häiriö, joka heikentää kortisolin biosynteesiä, liittyy vahvasti tiettyihin HLA-haplotyypeihin, erityisesti HLA-Bw47;DR7. PLH-linja on homotsygootti tämän haplotyyppin suhteen, ja sitä on käytetty geneettisenä mallina 21-OHase-puutoksen molekyyliperustan tutkimiseen. Se on erityisen arvokas tutkittaessa geenideleetioita, jotka vaikuttavat sytokromi P-450C21-geeniin, joka vastaa 21-hydroksylaatiosta, joka on kortisolin tuotannon ratkaiseva vaihe. DNA-koettimien avulla tehdyt molekyylianalyysit vahvistivat, että PLH-soluissa on homotsygoottinen deleetio jommassakummassa P-450C21-geenissä, mikä vastaa 21-hydroksylaasiaktiivisuuden häviämistä, jota on havaittu kyseisillä henkilöillä.

PLH-solulinja oli osa Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW) -paneelia, jonka tarkoituksena oli tarjota hyvin karakterisoitu joukko EBV:llä muunnettuja lymfoblastoidisolulinjoja, jotka edustavat erilaisia MHC-alleleja ja haplotyypejä. Nämä paneelit ovat välttämättömiä resursseja histokompatibiliteettitutkimuksissa, HLA-tyyppien kehittämisessä ja immunogenetiikan tutkimuksessa. PLH:n valinta 4AOHW:hen heijastaa sen ainutlaatuista MHC-genotyyppiä ja tautien merkitystä, sillä se edistää sekä HLA-alleelien määritysten standardointia että tutkimuksia, joissa tutkitaan immuunijärjestelmään liittyvien sairauksien geneettistä rakennetta.

Organism Ihminen

Tissue Lisämunuainen

Disease Klassinen 21-hydroksylaasin puutoksesta johtuva synnynnäinen lisämunuaisen liikakasvu

Metastatic site Perifeerinen veri

Ominaisuudet

Age Määrittelemätön

Gender Nainen

Ethnicity Skandinaavinen, kaukasialainen

Morphology Lymfoblastit

Cell type B-kenno

Growth properties Jousitus

PLH-solut | 302137

Säätelytiedot

Citation	PLH (Cytionin luettelonumero 302137)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E810

Biomolekyyli tiedot

Viruses	Epstein-Barr-virus (EBV)
----------------	--------------------------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Subculturing	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1×10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

PLH-solut | 302137

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

PLH-solut | 302137

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittämisillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.