

Cellules PLH | 302137

Informations générales

Description

La lignée cellulaire PLH est une lignée cellulaire lymphoblastoïde humaine transformée par le virus d'Epstein-Barr (EBV) et dérivée d'un patient atteint d'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) due à un déficit en stéroïde 21-hydroxylase (21-OHase). Ce trouble autosomique récessif, qui entrave la biosynthèse du cortisol, est fortement lié à des haplotypes HLA spécifiques, en particulier HLA-Bw47;DR7. La lignée PLH est homozygote pour cet haplotype et a été utilisée comme modèle génétique pour étudier les bases moléculaires du déficit en 21-OHase. Elle est particulièrement utile pour étudier les délétions génétiques affectant le gène du cytochrome P-450C21, qui est responsable de la 21-hydroxylation, une étape cruciale dans la production de cortisol. Des analyses moléculaires utilisant des sondes ADN ont confirmé que les cellules PLH présentent une délétion homozygote de l'un des deux gènes P-450C21, ce qui correspond à la perte de l'activité 21-hydroxylase observée chez les personnes affectées.

La lignée cellulaire PLH faisait partie du panel du Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW), qui visait à fournir un ensemble bien caractérisé de lignées cellulaires lymphoblastoïdes transformées par l'EBV et représentant divers allèles et haplotypes du CMH. Ces panels constituent des ressources essentielles pour les études d'histocompatibilité, le développement du typage HLA et la recherche en immunogénétique. La sélection de la PLH pour l'inclusion dans le 4AOHW reflète son génotype unique du CMH et son intérêt pour la maladie, contribuant à la fois à la normalisation de l'attribution des allèles HLA et aux études explorant l'architecture génétique des troubles liés à l'immunité.

Organism

Humain

Tissue

Glande surrénale

Disease

Hyperplasie congénitale classique des surrénales due à un déficit en 21-hydroxylase

Metastatic site

Sang périphérique

Caractéristiques

Age

Non spécifié

Gender

Femme

Ethnicity

Scandinave

Morphology

Lymphoblaste

Cell type

Cellule B

Growth properties

Suspension

Cellules PLH | 302137

Données réglementaires

Citation	PLH (numéro de catalogue Cytion 302137)
-----------------	---

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

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

Données biomoléculaires

Viruses	Virus d'Epstein-Barr (EBV)
----------------	----------------------------

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
--------------------	-------------------------------------

Subculturing	Homogénéiser doucement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélever un échantillon représentatif pour déterminer la densité cellulaire par ml. Diluer la suspension pour obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml avec du milieu de culture frais, et aliquoter la suspension ajustée dans de nouveaux flacons pour la poursuite de la culture.
---------------------	--

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, utilisez un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.
----------------------	---

Cellules PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules PLH | 302137

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.