

## PLH sejtek | 302137

## Általános információk

## Description

A PLH sejtvonal egy Epstein-Barr-vírus (EBV) által transzformált emberi limfoblasztoid sejtvonal, amely egy olyan betegből származik, aki szteroid 21-hidroxiláz (21-OHáz) hiány miatt veleszületett mellékvese-hyperpláziában (CAH) szenved. Ez az autoszomális recesszív rendellenesség, amely károsítja a kortizol bioszintézisét, erősen kötődik specifikus HLA-haplotípusokhoz, különösen a HLA-Bw47;DR7-hez. A PLH vonal homozigóta erre a haplotípusra, és genetikai modellként használták a 21-OHáz hiány molekuláris alapjainak vizsgálatára. Különösen értékes a citokróm P-450C21 gént érintő gendelációk tanulmányozásában, amely a 21-hidroxilációért, a kortizoltermelés egyik döntő fontosságú lépéséért felelős. A DNS-szondákkal végzett molekuláris elemzések megerősítették, hogy a PLH sejtekben a két P-450C21 gén egyikének homozigóta deléciója figyelhető meg, ami összhangban van az érintett egyéneknél megfigyelt 21-hidroxiláz-aktivitás elvesztésével.

A PLH sejtvonal a Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW) panel része volt, amelynek célja az EBV-transzformált limfoblasztoid sejtvonalak jól jellemzett, különböző MHC-allélokát és haplotípusokat képviselő készlete volt. Ezek a panelek alapvető erőforrásként szolgálnak a hisztokompatibilitási vizsgálatokhoz, a HLA-típusok fejlesztéséhez és az immunogenetikai kutatásokhoz. A PLH kiválasztása a 4AOHW-ba való felvételre az egyedi MHC genotípusát és betegségekkel kapcsolatos relevanciáját tükrözi, hozzájárulva mind a HLA allél hozzárendelések szabványosításához, mind az immunrendszerrel kapcsolatos rendellenességek genetikai felépítését feltáró vizsgálatokhoz.

## Organism

Emberi

## Tissue

Mellékvese

## Disease

Klasszikus veleszületett mellékvese túlműködés 21-hidroxiláz hiány miatt

## Metastatic site

Perifériás vér

## Jellemzők

## Age

Meghatározatlan

## Gender

Női

## Ethnicity

Skandináv, kaukázusi

## Morphology

Limfoblasztok

## Cell type

B sejt

## Growth properties

Felfüggesztés

## PLH sejtek | 302137

## Szabályozási adatok

<b>Citation</b>	PLH (Cytion katalógusszám: 302137)
-----------------	------------------------------------

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_E810
-----------------------------	-----------

## Biomolekuláris adatok

<b>Viruses</b>	Epstein-Barr-vírus (EBV)
----------------	--------------------------

## A kezelése

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

<b>Subculturing</b>	A lombikban lévő sejtuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel $1 \times 10^5$ sejt/ml sejtkoncentráció eléréséig, majd az így beállított szuszpenziót új lombikokba osztva továbbtenyésztse.
---------------------	--

<b>Freeze medium</b>	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.
----------------------	--

## PLH sejtek | 302137

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

### Flask Coating

Nincs

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## PLH sejtek | 302137

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.