

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 géndelációk 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 immungenetikai 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

Morphology

Limfoblasztok

Cell type

B sejt

Growth properties

Felfüggesztés

PLH sejtek | 302137

Szabályozási adatok

Citation	PLH (Cytion katalógusszám: 302137)
-----------------	------------------------------------

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

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

Biomolekuláris adatok

Viruses	Epstein-Barr-vírus (EBV)
----------------	--------------------------

A kezelése

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

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

Subculturing	Óvatosan keverje össze a lombikban lévő sejtszuszpenziót fel-le pipettázással, majd vegyen belőle egy reprezentatív mintát az 1 ml-re jutó sejtsűrűség meghatározásához. Hígítsa fel a szuszpenziót friss tenyésztőközeggel úgy, hogy a sejtkoncentráció 1×10^5 sejt/ml legyen, majd a beállított szuszpenziót ossza el új lombikokba a további tenyésztéshez.
---------------------	---

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként használjon teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t 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 °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 °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 krioüklét 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 sejtkölcsönhatás 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 °C , 5% CO_2 , párásított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

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

PLH sejtek | 302137

Shipping Conditions

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

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C 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.