

Cellule PLH | 302137

Informazioni generali

Description

La linea cellulare PLH è una linea cellulare linfoblastoide umana trasformata dal virus di Epstein-Barr (EBV), derivata da un paziente con iperplasia surrenale congenita (CAH) dovuta a un deficit di steroide 21-idrossilasi (21-OHase). Questo disturbo autosomico recessivo, che compromette la biosintesi del cortisolo, è fortemente legato a specifici aplotipi HLA, in particolare HLA-Bw47;DR7. La linea PLH è omozigote per questo aplotipo ed è stata utilizzata come modello genetico per studiare le basi molecolari del deficit di 21-OHasi. È particolarmente utile per studiare le delezioni geniche che interessano il gene del citocromo P-450C21, responsabile della 21-idrossilazione, una fase cruciale nella produzione di cortisolo. Le analisi molecolari condotte con sonde di DNA hanno confermato che le cellule PLH presentano una delezione omozigote di uno dei due geni P-450C21, coerentemente con la perdita dell'attività della 21-idrossilasi osservata negli individui affetti.

La linea cellulare PLH faceva parte del pannello del Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW), che mirava a fornire un insieme ben caratterizzato di linee cellulari linfoblastoidi trasformate da EBV che rappresentassero diversi alleli e aplotipi MHC. Questi pannelli servono come risorse essenziali per gli studi di istocompatibilità, lo sviluppo della tipizzazione HLA e la ricerca immunogenetica. La scelta della PLH per l'inclusione nel 4AOHW riflette il suo genotipo MHC unico e la sua rilevanza per le malattie, contribuendo sia alla standardizzazione dell'assegnazione degli alleli HLA sia agli studi che esplorano l'architettura genetica dei disturbi immunocorrelati.

Organism

Umano

Tissue

Ghiandola surrenale

Disease

Iperplasia surrenalica congenita classica dovuta al deficit di 21-idrossilasi

Metastatic site

Sangue periferico

Caratteristiche

Age

Non specificato

Gender

Donna

Ethnicity

Scandinavo

Morphology

Linfoblasto

Cell type

B Cella

Growth properties

Sospensione

Cellule PLH | 302137

Dati normativi

Citation	PLH (numero di catalogo Cytion 302137)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E810

Dati biomolecolari

Viruses	Virus di Epstein-Barr (EBV)
----------------	-----------------------------

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Subculturing	Omogeneizzare delicatamente la sospensione cellulare nella fiasca pipettando su e giù, quindi prelevare un campione rappresentativo per determinare la densità cellulare per ml. Diluire la sospensione per ottenere una concentrazione cellulare di 1×10^5 cellule/ml con terreno di coltura fresco e aliquotarla in nuove fiasche per l'ulteriore coltivazione.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizzare un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, oppure CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule PLH | 302137

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.