

## PLH ląstelės | 302137

## Bendra informacija

## Description

PLH ląstelių linija yra Epšteino-Baro viruso (EBV) transformuota žmogaus limfoblastoidinių ląstelių linija, gauta iš paciento, sergančio įgimta antinksčių hiperplazija (CAH) dėl steroidų 21-hidroksilazės (21-OHazės) trūkumo. Šis autosominis recesyvinis sutrikimas, dėl kurio sutrinka kortizolio biosintezė, yra glaudžiai susijęs su tam tikrais HLA haplotipais, ypač HLA-Bw47;DR7. PLH linija yra homozigotinė šiam haplotipui ir buvo naudojama kaip genetinis modelis 21-OHazės trūkumo molekuliniam pagrindui tirti. Ji ypač vertinga tiriant genų delecijas, turinčias įtakos citochromo P-450C21 genui, kuris yra atsakingas už 21-hidroksilinimą, esminį kortizolio gamybos etapą. Molekulinės analizės, atliktos naudojant DNR zondus, patvirtino, kad PLH ląstelėms būdinga homozigotinė vieno iš dviejų P-450C21 genų delecija, kuri atitinka 21-hidroksilazės aktyvumo praradimą, pastebėtą sergančių asmenų organizme.

PLH ląstelių linija buvo Ketvirtojo Azijos ir Okeanijos histokompatibilumo seminaro (4AOHW) grupės, kurios tikslas - sukurti gerai apibūdintą EBV transformuotų limfoblastoidinių ląstelių linijų, atstovaujančių įvairiems MHC aleliams ir haplotipams, rinkinį. Šios grupės yra svarbūs šaltiniai histokompatibilumo tyrimams, HLA tipizacijai kurti ir imunogenetikos tyrimams. PLH pasirinkimas įtraukti į 4AOHW atspindi unikalų MHC genotipą ir svarbą ligoms, nes tai padeda standartizuoti HLA alelių priskyrimą ir atlikti su imunitetu susijusių sutrikimų genetinės struktūros tyrimus.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Antinksčiai

**Disease** Klasikinė įgimta antinksčių hiperplazija dėl 21-hidroksilazės trūkumo

**Metastatic site** Periferinis kraujas

## Charakteristikos

**Age** Nenustatyta

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Skandinaviškas

**Morphology** Limfoblastai

**Cell type** B ląstelė

**Growth properties** Pakaba

## PLH ląstelės | 302137

## Reguliavimo duomenys

<b>Citation</b>	PLH (Cytion katalogo numeris 302137)
-----------------	--------------------------------------

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

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

## Biomolekuliniai duomenys

<b>Viruses</b>	Epšteino-Barro virusas (EBV)
----------------	------------------------------

## Tvarkymas

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

<b>Subculturing</b>	Švelniai homogenizuokite ląstelių suspensiją kolboje, pipete judėdami aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvų mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį mililitre. Praskieskite suspensiją šviežia auginimo terpe, kad ląstelių koncentracija būtų $1 \times 10^5$ ląstelių/ml, ir supilkite paruoštą suspensiją į naujas kolbas tolesniam auginimui.
---------------------	---

<b>Freeze medium</b>	Kaip kriokonservavimo terpę naudokite visavertę augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

## PLH ląstelės | 302137

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## PLH ląstelės | 302137

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.