

PLH šūnas | 302137

Vispārīga informācija

Description

PLH šūnu līnija ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) transformēta cilvēka limfoblastoīdu šūnu līnija, kas iegūta no pacienta ar iedzimtu virsnieru hiperplāziju (CAH), ko izraisījis steroīdu 21-hidroksilāzes (21-OHāzes) deficīts. Šī autosomāli recesīvā slimība, kas traucē kortizola biosintēzi, ir cieši saistīta ar specifiskiem HLA haplotipiem, īpaši HLA-Bw47;DR7. PLH līnija ir homozigotiska šim haplotipam, un to izmanto kā ģenētisko modeli, lai pētītu 21-OHāzes deficīta molekulāro pamatu. Tā ir īpaši vērtīga, pētot gēnu izdzēšanu, kas ietekmē citohroma P-450C21 gēnu, kurš ir atbildīgs par 21-hidroksilēšanu, kas ir būtisks kortizola ražošanas posms. Molekulārās analīzes, izmantojot DNS zondes, apstiprināja, ka PLH šūnām ir homozigotiska viena no diviem P-450C21 gēniem delecija, kas atbilst 21-hidroksilāzes aktivitātes zudumam, kas novērots skartajiem indivīdiem.

PLH šūnu līnija bija daļa no Ceturtā Āzijas un Okeānijas Histokompatibilitātes semināra (4AOHW) paneļa, kura mērķis bija nodrošināt labi raksturotu ar EBV transformētu limfoblastoīdu šūnu līniju kopumu, kas pārstāv dažādas MHC alēles un haplotipus. Šie paneļi kalpo kā būtiski resursi histokompatibilitātes pētījumiem, HLA tipizācijas izstrādei un imūnģenētikas pētījumiem. PLH atlase iekļaušanai 4AOHW atspoguļo tās unikālo MHC genotipu un nozīmīgumu slimībām, veicinot gan HLA alēļu piešķiršanas standartizāciju, gan pētījumus, kuros tiek pētīta ar imunitāti saistītu traucējumu ģenētiskā struktūra.

Organism

Cilvēks

Tissue

Virsnieru dziedzeris

Disease

Klasiska iedzimta virsnieru hiperplāzija 21-hidroksilāzes deficīta dēļ

Metastatic site

Perifērās asinis

Raksturojums

Age

Nav norādīts

Gender

Sievietes

Ethnicity

skandināvu

Morphology

Limfoblasts

Cell type

B šūna

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

PLH šūnas | 302137

Citation	PLH (Cytion kataloga numurs 302137)
-----------------	-------------------------------------

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

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

Biomolekulārie dati

Vīruses	Epšteina-Barra vīruss (EBV)
----------------	-----------------------------

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Subculturing	Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot augšup un lejup, pēc tam paņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju ar svaigu kultivēšanas vidi, lai panāktu šūnu koncentrāciju 1×10^5 šūnas/ml, un sadaliet sagatavoto suspensiju alikvotos daudzumos jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.
---------------------	---

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni izmantojiet pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

PLH šūnas | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

PLH šūnas | 302137

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.