

Komórki PLH | 302137

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa PLH to przekształcona wirusem Epsteina-Barr (EBV) ludzka linia komórek limfoblastoidalnych pochodząca od pacjenta z wrodzonym przerostem nadnerczy (CAH) spowodowanym niedoborem 21-hydroksylazy steroidowej (21-OHase). To autosomalne recesywne zaburzenie, które upośledza biosyntezę kortyzolu, jest silnie związane z określonymi haplotypami HLA, w szczególności HLA-Bw47;DR7. Linia PLH jest homozygotyczna dla tego haplotypu i została wykorzystana jako model genetyczny do badania molekularnych podstaw niedoboru 21-OHazy. Jest ona szczególnie cenna w badaniu delecji genów wpływających na gen cytochromu P-450C21, który jest odpowiedzialny za 21-hydroksylację, kluczowy etap w produkcji kortyzolu. Analizy molekularne z wykorzystaniem sond DNA potwierdziły, że komórki PLH wykazują homozygotyczną delecję jednego z dwóch genów P-450C21, co jest zgodne z utratą aktywności 21-hydroksylazy obserwowaną u osób dotkniętych chorobą.

Linia komórkowa PLH była częścią panelu Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW), który miał na celu zapewnienie dobrze scharakteryzowanego zestawu linii komórkowych limfoblastoidów transformowanych EBV, reprezentujących różne allele i haplotypy MHC. Panele te służą jako podstawowe zasoby do badań zgodności tkankowej, rozwoju typowania HLA i badań immunogenetycznych. Wybór PLH do włączenia do 4AOHW odzwierciedlał jego unikalny genotyp MHC i znaczenie dla choroby, przyczyniając się zarówno do standaryzacji przypisań alleli HLA, jak i badań badających architekturę genetyczną zaburzeń związanych z odpornością.

Organism

Człowiek

Tissue

Nadnercza

Disease

Klasyyczny wrodzony przerost nadnerczy spowodowany niedoborem 21-hydroksylazy

Metastatic site

Krew obwodowa

Charakterystyka

Age

Nieokreślony

Gender

Kobieta

Ethnicity

Skandynawski, kaukaski

Morphology

Limfoblast

Cell type

Komórka B

Growth properties

Zawieszenie

Komórki PLH | 302137

Dane regulacyjne

Citation	PLH (numer katalogowy Cytion 302137)
-----------------	--------------------------------------

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

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

Dane biomolekularne

Viruses	Wirus Epsteina-Barr (EBV)
----------------	---------------------------

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

Subculturing	Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1×10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.
---------------------	---

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

Komórki PLH | 302137**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki PLH | 302137

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.