

## 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

Klasyczny wrodzony przerost nadnerczy spowodowany niedoborem 21-hydroksylazy

## Metastatic site

Krew obwodowa

## Charakterystyka

## Age

Nieokreślony

## Gender

Kobieta

## Ethnicity

Skandynawski

## 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<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Subculturing** Delikatnie zhomogenizować zawiesinę komórek w kolbie poprzez pipetowanie w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę, aby uzyskać stężenie komórek  $1 \times 10^5$  komórek/ml za pomocą świeżego podłoża hodowlanego, a następnie przenieść dostosowaną zawiesinę do nowych kolb w celu dalszej hodowli.**Freeze medium** Jako pożywkę do kriokonserwacji należy stosować kompletną pożywkę wzrostową (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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  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.