

Celule PLH | 302137

Informații generale

Description

Linia celulară PLH este o linie celulară limfoblastoidă umană transformată cu virusul Epstein-Barr (EBV), obținută de la un pacient cu hiperplazie suprarenală congenitală (HSC) datorată deficitului de steroizi 21-hidroxilază (21-OHază). Această tulburare autosomal recesivă, care afectează biosinteza cortizolului, este strâns legată de haplotipuri HLA specifice, în special HLA-Bw47;DR7. Linia PLH este homozigotă pentru acest haplotip și a fost utilizată ca model genetic pentru a investiga baza moleculară a deficienței 21-OHase. Aceasta este deosebit de valoroasă pentru studierea delețiilor genice care afectează gena citocromului P-450C21, care este responsabilă de 21-hidroxilare, o etapă crucială în producerea cortizolului. Analizele moleculare cu ajutorul sondelor ADN au confirmat că celulele PLH prezintă o deleție homozigotă a uneia dintre cele două gene P-450C21, în concordanță cu pierderea activității 21-hidroxilazei observată la persoanele afectate.

Linia celulară PLH a făcut parte din panoul celui de-al patrulea atelier de histocompatibilitate Asia-Oceania (4AOHW), care a avut ca scop furnizarea unui set bine caracterizat de linii celulare limfoblastoide transformate prin EBV, reprezentând diverse alele și haplotipuri MHC. Aceste panouri servesc drept resurse esențiale pentru studiile de histocompatibilitate, dezvoltarea tipurilor HLA și cercetarea imunogenetică. Selectarea PLH pentru includerea în 4AOHW a reflectat genotipul său MHC unic și relevanța bolii, contribuind atât la standardizarea atribuirii alelelor HLA, cât și la studiile de explorare a arhitecturii genetice a tulburărilor legate de imunitate.

Organism

Om

Tissue

Glanda suprarenală

Disease

Hiperplazie suprarenală congenitală clasică datorată deficitului de 21-hidroxilază

Metastatic site

Sânge periferic

Caracteristici

Age

Nespecificat

Gender

Femei

Ethnicity

Scandinav, caucazian

Morphology

Limfoblast

Cell type

Celula B

Growth properties

Suspensie

Celule PLH | 302137

Date de reglementare

Citation	PLH (număr de catalog Cytion 302137)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E810

Date biomoleculare

Viruses	Virusul Epstein-Barr (EBV)
----------------	----------------------------

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Subculturing	Omogenizați ușor suspensia celulară din balon prin pipetare în sus și în jos, apoi prelevați o probă reprezentativă pentru a determina densitatea celulară pe ml. Diluați suspensia pentru a obține o concentrație celulară de 1×10^5 celule/ml cu mediu de cultură proaspăt și distribuiți suspensia ajustată în baloane noi pentru cultivare ulterioară.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule PLH | 302137

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule PLH | 302137

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.