

PLH bunky | 302137

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia PLH je ľudská lymfoblastoidná bunková línia transformovaná vírusom Epsteina-Barrovej (EBV), získaná od pacienta s vrodenou hyperpláziou nadobličiek (CAH) v dôsledku deficitu steroidnej 21-hydroxylázy (21-OHázy). Táto autozomálne recesívna porucha, ktorá narúša biosyntézu kortizolu, je silne spojená so špecifickými haplotypmi HLA, najmä HLA-Bw47;DR7. Línia PLH je homozygotná pre tento haplotyp a používa sa ako genetický model na skúmanie molekulárnej podstaty deficitu 21-OHázy. Je obzvlášť cenná pri štúdiu génových delécií ovplyvňujúcich gén cytochrómu P-450C21, ktorý je zodpovedný za 21-hydroxyláciu, kľúčový krok pri produkcii kortizolu. Molekulárne analýzy pomocou sond DNA potvrdili, že PLH bunky vykazujú homozygotnú deléciu jedného z dvoch génov P-450C21, čo zodpovedá strate aktivity 21-hydroxylázy pozorovanej u postihnutých jedincov.

Bunková línia PLH bola súčasťou panelu 4AOHW (Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop), ktorého cieľom bolo poskytnúť dobre charakterizovaný súbor lymfoblastoidných bunkových línií transformovaných EBV, ktoré reprezentujú rôzne alely a haplotypy MHC. Tieto panely slúžia ako základné zdroje pre štúdie histokompatibility, vývoj typizácie HLA a imunogenetický výskum. Výber PLH na zaradenie do 4AOHW odzrkadľuje jeho jedinečný genotyp MHC a význam pre ochorenia, čo prispieva k štandardizácii priradenia alel HLA a k štúdiám skúmajúcim genetickú štruktúru porúch súvisiacich s imunitou.

Organism

Ľudské

Tissue

Nadobličky

Disease

Klasická vrodená hyperplázia nadobličiek spôsobená deficitom 21-hydroxylázy

Metastatic site

Periférna krv

Charakteristika

Age

Nešpecifikované

Gender

Ženy

Ethnicity

Škandinávsky, kaukazský

Morphology

Lymfoblast

Cell type

B bunka

Growth properties

Pozastavenie

PLH bunky | 302137

Regulačné údaje

Citation	PLH (katalógové číslo Cytion 302137)
-----------------	--------------------------------------

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

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

Biomolekulárne údaje

Viruses	Vírus Epsteina-Barrovej (EBV)
----------------	-------------------------------

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
--------------------	---------------------------

Subculturing	Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.
---------------------	--

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.
----------------------	--

PLH bunky | 302137

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

PLH bunky | 302137

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.