

PLH celice | 302137

Splošne informacije

Description

Celična linija PLH je z virusom Epstein-Barr (EBV) transformirana človeška limfoblastoidna celična linija, pridobljena od bolnika s prirojeno hiperplazijo nadledvičnic (CAH) zaradi pomanjkanja steroidne 21-hidroksilaze (21-OHaza). Ta avtosomno recesivna motnja, pri kateri je motena biosinteza kortizola, je močno povezana s posebnimi haplotipi HLA, zlasti HLA-Bw47;DR7. Linija PLH je homozigotna za ta haplotip in je bila uporabljena kot genetski model za raziskovanje molekularne osnove pomanjkanja 21-OHaze. Še posebej je dragocena pri preučevanju genskih delecij, ki vplivajo na gen citohroma P-450C21, ki je odgovoren za 21-hidroksilacijo, ključni korak pri proizvodnji kortizola. Molekularne analize z uporabo DNK sond so potrdile, da imajo celice PLH homozigotni izbris enega od dveh genov P-450C21, kar je skladno z izgubo 21-hidroksilazne aktivnosti, opaženo pri prizadetih posameznikih.

Celična linija PLH je bila del plošče 4AOHW (Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop), katere cilj je bil zagotoviti dobro opisan niz limfoblastoidnih celičnih linij, preoblikovanih z EBV, ki predstavljajo različne alele in haplotipe MHC. Ti paneli služijo kot bistveni viri za študije histokompatibilnosti, razvoj tipizacije HLA in raziskave imunogenetike. Izbira PLH za vključitev v 4AOHW odraža njegov edinstveni genotip MHC in pomen za bolezen, kar prispeva k standardizaciji dodeljevanja alelov HLA in raziskavam genetske strukture motenj, povezanih z imunskim sistemom.

Organism

Človek

Tissue

Nadledvična žleza

Disease

Klasična prirojena hiperplazija nadledvične žleze zaradi pomanjkanja 21-hidroksilaze

Metastatic site

Periferna kri

Značilnosti

Age

Neopredeljeno

Gender

Ženske

Ethnicity

skandinavski

Morphology

Limfoblast

Cell type

B Celica

Growth properties

Vzmetenje

PLH celice | 302137

Regulativni podatki

Citation	PLH (kataloška številka Cytion 302137)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E810

Biomolekularni podatki

Viruses	Virus Epstein-Barr (EBV)
----------------	--------------------------

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Subculturing	Suspenzijo celic v kolbi nežno homogenizirajte s pipetiranjem navzgor in navzdol, nato odzemetite reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na mililiter. Suspenzijo razredčite s svežim gojiščem, da dosežete koncentracijo 1×10^5 celic/ml, in pripravljeno suspenzijo razdelite v nove kolbe za nadaljnje gojenje.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabite popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s krio.

PLH celice | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

PLH celice | 302137

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.