

PLH Hücreleri | 302137

Genel bilgi

Description

PLH hücre hattı, steroid 21-hidroksilaz (21-OHaz) eksikliğine bağlı konjenital adrenal hiperplazisi (KAH) olan bir hastadan türetilen Epstein-Barr virüsü (EBV) ile transforme edilmiş bir insan lenfoblastoid hücre hattıdır. Kortizol biyosentezini bozan bu otozomal resesif bozukluk, özellikle HLA-Bw47;DR7 olmak üzere spesifik HLA haplotipleriyle güçlü bir şekilde bağlantılıdır. PLH hattı bu haplotip için homozigottur ve 21-OHaz eksikliğinin moleküler temelini araştırmak için genetik bir model olarak kullanılmıştır. Özellikle kortizol üretiminde çok önemli bir adım olan 21-hidroksilasyondan sorumlu olan sitokrom P-450C21 genini etkileyen gen delesyonlarının incelenmesinde değerlidir. DNA problemleri kullanılarak yapılan moleküler analizler, PLH hücrelerinin iki P-450C21 geninden birinde homozigot bir delesyon sergilediğini ve etkilenen bireylerde gözlenen 21-hidroksilaz aktivitesi kaybıyla tutarlı olduğunu doğrulamıştır.

PLH hücre hattı, çeşitli MHC alellerini ve haplotiplerini temsil eden iyi karakterize edilmiş bir dizi EBV-transforme lenfoblastoid hücre hattı sağlamayı amaçlayan Dördüncü Asya-Okyanusya Histouyumluluk Çalıştayı (4AOHW) panelinin bir parçasıydı. Bu paneller, histo-uyumluluk çalışmaları, HLA tipleme geliştirme ve immünojenetik araştırmaları için temel kaynaklar olarak hizmet vermektedir. PLH'nin 4AOHW'ye dahil edilmek üzere seçilmesi, hem HLA alel atamalarının standardizasyonuna hem de bağışıklıkla ilgili bozuklukların genetik mimarisini araştıran çalışmalara katkıda bulunan benzersiz MHC genotipini ve hastalıkla ilgisini yansıtmaktadır.

Organism

İnsan

Tissue

Adrenal bez

Disease

21-hidroksilaz eksikliğine bağlı klasik konjenital adrenal hiperplazi

Metastatic site

Periferik kan

Özellikler

Age

Belirtilmemiş

Gender

Kadın

Ethnicity

İskandinav, Kafkasyalı

Morphology

Lenfoblast

Cell type

B Hücresi

Growth properties

Süspansiyon

PLH Hücreleri | 302137

Düzenleyici Veriler

Citation PLH (Cytion katalog numarası 302137)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E810

Biyomoleküler Veriler

Viruses Epstein-Barr virüsü (EBV)

Elleçleme

Culture Medium RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Subculturing Şişedeki hücre süspansiyonunu pipetle yukarı aşağı hareket ettirerek nazıkçe homojenleştirin, ardından ml başına hücre yoğunluğunu belirlemek için temsili bir numune alın. Süspansiyonu, 1×10^5 hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşmak için taze kültür ortamı ile seyreltin ve ayarlanan süspansiyonu daha fazla kültürleme için yeni şişelere bölün.

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

PLH Hücreleri | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

PLH Hücreleri | 302137

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.