

Клітини PLH | 302137

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія PLH - це трансформована вірусом Епштейна-Барр (EBV) лінія лімфобластоїдних клітин людини, отримана від пацієнта з вродженою гіперплазією надниркових залоз (ВГНЗ) через дефіцит стероїдної 21-гідроксилази (21-OHA). Це аутосомно-рецесивне захворювання, яке порушує біосинтез кортизолу, тісно пов'язане з певними гаплотипами HLA, зокрема HLA-B*47;DR7. Лінія PLH є гомозиготною за цим гаплотипом і була використана як генетична модель для дослідження молекулярних основ дефіциту 21-ОГазі. Вона особливо цінна для вивчення делецій генів, що впливають на ген цитохрому P-450C21, який відповідає за 21-гідроксилування, вирішальний етап у виробництві кортизолу. Молекулярний аналіз з використанням ДНК-зондів підтвердив, що клітини ЛЖВ мають гомозиготну делецію одного з двох генів P-450C21, що узгоджується з втратою активності 21-гідроксилази, яка спостерігається в уражених осіб.

Клітинна лінія PLH була частиною панелі Четвертого семінару з гістосумісності в Азії та Океанії (4AONW), метою якого було створення добре охарактеризованого набору трансформованих EBV лімфобластоїдних клітинних ліній, що представляють різні алелі та гаплотипи MHC. Ці панелі слугують важливими ресурсами для досліджень гістосумісності, розробки HLA-типування та імуногенетичних досліджень. Вибір ЛЖК для включення в 4AONW відображає їх унікальний генотип MHC і релевантність захворювання, що сприяє як стандартизації визначення алелів HLA, так і дослідженням, що вивчають генетичну архітектуру імунозалежних розладів.

Organism

Людина

Tissue

Надниркова залоза

Disease

Класична вроджена гіперплазія надниркових залоз внаслідок дефіциту 21-гідроксилази

Metastatic site

Периферична кров

Характеристики

Age

Не визначено

Gender

Жінка

Ethnicity

скандинавський

Morphology

Лімфобласт

Cell type

Клітина Б

Growth properties

Підвіска

Клітини PLH | 302137

Нормативні дані

Citation ЛЖВ (номер за каталогом Cytion 302137)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E810

Біомолекулярні дані

Viruses Вірус Епштейна-Барр (EBV)

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Subculturing Акратно гомогенізуйте клітинну суспензію у колбі, перемішуючи її піпеткою вгору-вниз, а потім візьміть репрезентативну пробу для визначення щільності клітин на мілілітр. Розведіть суспензію свіжим культуральним середовищем до концентрації 1×10^5 клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію по нових колбах для подальшого культивування.

Freeze medium Як середовище криоконсервування використовуйте повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), яке містить оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини PLH | 302137

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини PLH | 302137

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.