

Cellules PLH | 302137

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire PLH est une lignée de cellules lymphoblastiques humaines transformées par le virus d'Epstein-Barr (VEB), dérivée d'un patient atteint d'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) due à un déficit en 21-hydroxylase stéroïdienne (21-OHase). Cette maladie autosomique récessive, qui altère la biosynthèse du cortisol, est étroitement liée à des haplotypes HLA spécifiques, notamment HLA-Bw47;DR7. La lignée PLH est homozygote pour cet haplotype et a été utilisée comme modèle génétique pour étudier les mécanismes moléculaires du déficit en 21-OHase. Elle s'avère particulièrement utile pour l'étude des délétions génétiques affectant le gène du cytochrome P-450C21, responsable de la 21-hydroxylation, une étape cruciale de la production de cortisol. Des analyses moléculaires à l'aide de sondes d'ADN ont confirmé que les cellules PLH présentent une délétion homozygote de l'un des deux gènes P-450C21, ce qui concorde avec la perte d'activité de la 21-hydroxylase observée chez les personnes atteintes.

La lignée cellulaire PLH faisait partie du panel du quatrième atelier sur l'histocompatibilité en Asie-Océanie (4AOHW), qui visait à fournir un ensemble bien caractérisé de lignées cellulaires lymphoblastiques transformées par l'EBV représentant divers allèles et haplotypes du CMH. Ces panels constituent des ressources essentielles pour les études d'histocompatibilité, le développement du typage HLA et la recherche en immunogénétique. Le choix de la lignée PLH pour faire partie du 4AOHW reflétait son génotype du CMH unique et sa pertinence sur le plan clinique, contribuant ainsi à la fois à la normalisation de l'attribution des allèles HLA et aux études explorant l'architecture génétique des troubles liés au système immunitaire.

Organism

Humain

Tissue

Glande surrénale

Disease

Hyperplasie congénitale classique des glandes surrénales due à un déficit en 21-hydroxylase

Metastatic site

Sang périphérique

Caractéristiques

Age

Non précisé

Gender

Femme

Ethnicity

Scandinave, caucasien

Morphology

Lymphoblaste

Cell type

Cellule B

Growth properties

Suspension

Cellules PLH | 302137

Données réglementaires

Citation PLH (numéro de catalogue Cytion 302137)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E810

Données biomoléculaires

Viruses Virus d'Epstein-Barr (EBV)

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Subculturing Homogénéisez délicatement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélevez un échantillon représentatif afin de déterminer la densité cellulaire par ml. Diluez la suspension avec du milieu de culture frais jusqu'à obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml, puis répartissez la suspension ajustée en aliquotes dans de nouveaux flacons en vue de la poursuite de la culture.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.