

Tế bào PLH | 302137

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào PLH là một dòng tế bào lymphoblastoid người được biến đổi bởi virus Epstein-Barr (EBV), được phân lập từ một bệnh nhân mắc chứng tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh (CAH) do thiếu hụt enzym 21-hydroxylase (21-OHase). Rối loạn di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường này, gây suy giảm tổng hợp cortisol, có liên quan chặt chẽ với các haplotype HLA cụ thể, đặc biệt là HLA-Bw47;DR7. Dòng tế bào PLH mang kiểu gen đồng hợp tử cho haplotype này và đã được sử dụng làm mô hình di truyền để nghiên cứu cơ sở phân tử của thiếu hụt 21-OHase. Nó đặc biệt hữu ích trong việc nghiên cứu các đột biến gen ảnh hưởng đến gen cytochrome P-450C21, chịu trách nhiệm cho quá trình 21-hydroxylation, một bước quan trọng trong sản xuất cortisol. Các phân tích phân tử sử dụng các probe DNA đã xác nhận rằng các tế bào PLH có sự xóa đồng hợp tử của một trong hai gen P-450C21, phù hợp với sự mất hoạt động của 21-hydroxylase được quan sát thấy ở các cá thể bị ảnh hưởng.

Dòng tế bào PLH là một phần của bảng mẫu Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW), nhằm cung cấp một bộ sưu tập được đặc trưng kỹ lưỡng các dòng tế bào lymphoblastoid được biến đổi bởi EBV, đại diện cho các alen và haplotype MHC đa dạng. Các bảng mẫu này đóng vai trò là nguồn tài nguyên thiết yếu cho các nghiên cứu về tương thích mô, phát triển định typ HLA và nghiên cứu di truyền miễn dịch. Việc lựa chọn PLH để đưa vào 4AOHW phản ánh kiểu gen MHC độc đáo và tính liên quan đến bệnh tật của nó, góp phần vào việc tiêu chuẩn hóa việc gán alen HLA và các nghiên cứu khám phá cấu trúc di truyền của các rối loạn liên quan đến miễn dịch.

Organism

Con người

Tissue

Tuyến thượng thận

Disease

Bệnh tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh điển hình do thiếu hụt enzym 21-hydroxylase

Metastatic site

Máu ngoại vi

Đặc điểm

Age

Không xác định

Gender

Nữ

Ethnicity

Bắc Âu

Morphology

Tế bào lymphoblast

Cell type

Tế bào B

Growth properties

Hệ thống treo

Tế bào PLH | 302137

Dữ liệu quy định

Citation	PLH (Số catalog Cytion 302137)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E810

Dữ liệu sinh học phân tử

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

Xử lý

Culture Medium	RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Subculturing	Hòa trộn nhẹ nhàng hỗn hợp tế bào trong bình bằng cách hút và đẩy ống tiêm lên xuống, sau đó lấy một mẫu đại diện để xác định mật độ tế bào trên mỗi ml. Pha loãng hỗn hợp với môi trường nuôi cấy mới để đạt nồng độ tế bào là 1×10^5 tế bào/ml, rồi chia hỗn hợp đã điều chỉnh thành các phần bằng nhau và chuyển vào các bình mới để tiếp tục nuôi cấy.
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), chứa các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào PLH | 302137

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào PLH | 302137

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.