

PLH-celler | 302137

Generel information

Description

PLH-cellelinjen er en Epstein-Barr-virus (EBV)-transformeret human lymfoblastoid-cellelinje, der stammer fra en patient med medfødt binyrebarkhyperplasi (CAH) på grund af steroid 21-hydroxylase (21-OHase)-mangel. Denne autosomale recessive lidelse, som nedsætter biosyntesen af kortisol, er stærkt knyttet til specifikke HLA-haplotyper, især HLA-Bw47;DR7. PLH-linjen er homozygot for denne haplotype og er blevet brugt som en genetisk model til at undersøge det molekulære grundlag for 21-OHase-mangel. Den er især værdifuld til at studere gensletninger, der påvirker cytokrom P-450C21-genet, som er ansvarlig for 21-hydroxylering, et afgørende trin i produktionen af kortisol. Molekulære analyser med DNA-sonder bekræftede, at PLH-celler udviser en homozygot deletion af et af de to P-450C21-gener, hvilket stemmer overens med det tab af 21-hydroxylaseaktivitet, der er observeret hos de berørte personer.

PLH-cellelinjen var en del af Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW)-panelet, som havde til formål at tilvejebringe et velkarakteriseret sæt EBV-transformerede lymfoblastoide cellelinjer, der repræsenterer forskellige MHC-alleler og haplotyper. Disse paneler fungerer som vigtige ressourcer for histokompatibilitetsstudier, udvikling af HLA-typning og immunogenetisk forskning. Udvælgelsen af PLH til 4AOHW afspejlede dens unikke MHC-genotype og sygdomsrelevans, hvilket bidrager til både standardiseringen af HLA-alleltildelinger og undersøgelser, der udforsker den genetiske arkitektur af immunrelaterede lidelser.

Organism

Menneske

Tissue

Binyrerne

Disease

Klassisk medfødt binyrebarkhyperplasi på grund af 21-hydroxylase-mangel

Metastatic site

Perifert blod

Karakteristika

Age

Uspecificeret

Gender

Kvinde

Ethnicity

Skandinavisk, kaukasisk

Morphology

Lymfoblast

Cell type

B-celle

Growth properties

Ophængning

PLH-celler | 302137

Regulatoriske data

Citation PLH (Cytion katalognummer 302137)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E810

Biomolekylære data

Viruses Epstein-Barr-virus (EBV)

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Subculturing Homogeniser forsigtigt celled suspensionen i kolben ved at pipettere op og ned, og tag derefter en repræsentativ prøve for at bestemme celletætheden pr. ml. Fortynd suspensionen til en cellekoncentration på 1×10^5 celler/ml med frisk dyrkningsmedium, og fordel den justerede suspension i nye kolber til videre dyrkning.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

PLH-celler | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

PLH-celler | 302137

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.