

PLH-Zellen | 302137

Allgemeine Informationen

Description

Die PLH-Zelllinie ist eine durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) transformierte humane lymphoblastoide Zelllinie, die von einem Patienten mit kongenitaler adrenaler Hyperplasie (CAH) aufgrund eines Steroid-21-Hydroxylase-Mangels (21-OHase) stammt. Diese autosomal rezessiv vererbte Störung, die die Cortisol-Biosynthese beeinträchtigt, ist eng mit bestimmten HLA-Haplotypen verbunden, insbesondere mit HLA-Bw47;DR7. Die PLH-Linie ist homozygot für diesen Haplotyp und wurde als genetisches Modell verwendet, um die molekularen Grundlagen des 21-OHase-Mangels zu untersuchen. Sie ist besonders wertvoll bei der Untersuchung von Gendelektionen, die das Cytochrom P-450C21-Gen betreffen, das für die 21-Hydroxylierung, einen entscheidenden Schritt bei der Cortisolproduktion, verantwortlich ist. Molekulare Analysen mit DNA-Sonden bestätigten, dass PLH-Zellen eine homozygote Deletion eines der beiden P-450C21-Gene aufweisen, was mit dem bei den betroffenen Personen beobachteten Verlust der 21-Hydroxylase-Aktivität übereinstimmt.

Die PLH-Zelllinie war Teil des Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW) Panels, dessen Ziel es war, einen gut charakterisierten Satz von EBV-transformierten lymphoblastoiden Zelllinien bereitzustellen, die verschiedene MHC-Allele und Haplotypen repräsentieren. Diese Panels dienen als wichtige Ressourcen für Histokompatibilitätsstudien, die Entwicklung von HLA-Typisierungen und die immunogenetische Forschung. Die Auswahl von PLH für die Aufnahme in das 4AOHW spiegelt seinen einzigartigen MHC-Genotyp und seine Krankheitsrelevanz wider und trägt sowohl zur Standardisierung der HLA-Alleluordnung als auch zu Studien bei, die die genetische Architektur immunbezogener Erkrankungen untersuchen.

Organism

Menschen

Tissue

Nebennierendrüse

Disease

Klassische kongenitale Nebennierenhyperplasie aufgrund eines 21-Hydroxylase-Mangels

Metastatic site

Peripheres Blut

Merkmale

Age

Nicht spezifiziert

Gender

Weiblich

Ethnicity

Skandinavisch, Kaukasisch

Morphology

Lymphoblasten

Cell type

B Zelle

Growth properties

Aufhängung

PLH-Zellen | 302137

Regulatorische Daten

Citation PLH (Cytion Katalognummer 302137)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E810

Biomolekulare Daten

Viruses Epstein-Barr-Virus (EBV)

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Subculturing Homogenisieren Sie die Zellsuspension im Kolben vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren und entnehmen Sie dann eine repräsentative Probe, um die Zelldichte pro ml zu bestimmen. Verdünnen Sie die Suspension mit frischem Kulturmedium auf eine Zellkonzentration von 1×10^5 Zellen/ml und füllen Sie die angepasste Suspension zur weiteren Kultivierung in neue Kolben.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

PLH-Zellen | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

PLH-Zellen | 302137

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.