

PLH-cellen | 302137

Algemene informatie

Description

De PLH-cel lijn is een Epstein-Barr virus (EBV)-getransformeerde humane lymfoblastoïde cel lijn afkomstig van een patiënt met congenitale bijnierhyperplasie (CAH) als gevolg van steroïde 21-hydroxylase (21-OHase)-deficiëntie. Deze autosomaal recessieve aandoening, die de biosynthese van cortisol belemmert, is sterk gekoppeld aan specifieke HLA haplotypes, met name HLA-Bw47;DR7. De PLH-lijn is homozygoot voor dit haplo type en is gebruikt als genetisch model om de moleculaire basis van 21-OHase deficiëntie te onderzoeken. Ze is vooral waardevol bij het bestuderen van gen-deleties die het cytochroom P-450C21-gen beïnvloeden, dat verantwoordelijk is voor 21-hydroxylering, een cruciale stap in de cortisolproductie. Moleculaire analyses met behulp van DNA-sondes bevestigden dat PLH-cellen een homozygote deletie van een van de twee P-450C21-genen vertonen, wat consistent is met het verlies van 21-hydroxylase activiteit dat wordt waargenomen bij getroffen individuen.

De PLH-cel lijn maakte deel uit van het Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW)-panel, dat bedoeld was om een goed gekarakteriseerde set EBV-getransformeerde lymfoblastoïde cel lijnen te leveren die verschillende MHC-allelen en haplotypen vertegenwoordigen. Deze panels dienen als essentiële bronnen voor histocompatibiliteitsstudies, ontwikkeling van HLA-typeringen en immunogenetisch onderzoek. De selectie van PLH voor opname in de 4AOHW weerspiegelde haar unieke MHC-genotype en ziekterelevantie, wat bijdraagt aan zowel de standaardisatie van HLA alletoewijzingen als studies die de genetische architectuur van immuungerelateerde aandoeningen onderzoeken.

Organism

Mens

Tissue

Bijnier

Disease

Klassieke congenitale bijnierhyperplasie door 21-hydroxylasedeficiëntie

Metastatic site

Perifeer bloed

Kenmerken

Age

Ongespecificeerd

Gender

Vrouw

Ethnicity

Scandinavisch

Morphology

Lymfoblast

Cell type

B Cel

Growth properties

Ophanging

PLH-cellen | 302137

Regelgevende gegevens

Citation	PLH (Cytion catalogusnummer 302137)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E810

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Epstein-Barr virus (EBV)
----------------	--------------------------

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Subculturing	Homogeniseer de celsuspensie in de erlenmeyer voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van 1×10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en breng de aangepaste suspensie aliquot over in nieuwe kolven voor verdere kweek.
Freeze medium	Gebruik als cryoconserveringsmedium volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

PLH-cellen | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

PLH-cellen | 302137

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.