

PLH-celler | 302137

Generell informasjon

Description

PLH-cellelinjen er en Epstein-Barr-virus (EBV)-transformert human lymfoblastoid cellelinje som stammer fra en pasient med medfødt binyrebarkhyperplasi (CAH) på grunn av steroid 21-hydroksylase (21-OHase)-mangel. Denne autosomale recessive lidelsen, som svekker biosyntesen av kortisol, er sterkt knyttet til spesifikke HLA-haplotyper, særlig HLA-Bw47;DR7. PLH-linjen er homozygot for denne haplotypen og har blitt brukt som en genetisk modell for å undersøke det molekylære grunnlaget for 21-OHase-mangel. Den er spesielt verdifull når det gjelder å studere gendeesjoner som påvirker cytokrom P-450C21-genet, som er ansvarlig for 21-hydroksylering, et avgjørende trinn i kortisolproduksjonen. Molekylære analyser ved hjelp av DNA-sonder bekreftet at PLH-celler har en homozygot delesjon av ett av de to P-450C21-genene, noe som stemmer overens med tapet av 21-hydroksylaseaktivitet som er observert hos de berørte individene.

PLH-cellelinjen var en del av det fjerde Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4OHW)-panelet, som hadde som mål å tilby et velkarakterisert sett med EBV-transformerte lymfoblastoide cellelinjer som representerer ulike MHC-alleler og haplotyper. Disse panelene er viktige ressurser for histokompatibilitetsstudier, utvikling av HLA-typing og immunogenetisk forskning. PLH ble valgt ut til å inngå i 4OHW på grunn av sin unike MHC-genotype og sykdomsrelevans, noe som bidrar til både standardisering av HLA-alleltildelinger og studier som utforsker den genetiske arkitekturen til immunrelaterte lidelser.

Organism

Menneskelig

Tissue

Binyrene

Disease

Klassisk medfødt binyrebarkhyperplasi på grunn av 21-hydroksylasemangel

Metastatic site

Perifert blod

Kjennetegn

Age

Uspesifisert

Gender

Kvinne

Ethnicity

Skandinavisk, kaukasisk

Morphology

Lymfoblast

Cell type

B Cell

Growth properties

Oppheng

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 NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Subculturing	Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celletettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på 1×10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

PLH-celler | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

PLH-celler | 302137

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.