

PLH-celler | 302137

Allmän information

Description

PLH-cellinjen är en Epstein-Barr-virus (EBV)-transformerad human lymfoblastoid cellinje som härrör från en patient med kongenital binjurehyperplasi (CAH) på grund av steroid 21-hydroxylas (21-OHase)-brist. Denna autosomala recessiva sjukdom, som försämrar biosyntesen av kortisol, är starkt kopplad till specifika HLA-haplotyper, särskilt HLA-Bw47;DR7. PLH-linjen är homozygot för denna haplotyp och har använts som en genetisk modell för att undersöka den molekylära grunden för 21-OHase-brist. Den är särskilt värdefull för att studera gendelektioner som påverkar cytokrom P-450C21-genen, som är ansvarig för 21-hydroxylering, ett avgörande steg i kortisolproduktionen. Molekylära analyser med hjälp av DNA-prober bekräftade att PLH-cellerna uppvisar en homozygot deletion av en av de två P-450C21-generna, vilket överensstämmer med den förlust av 21-hydroxylasaktivitet som observerats hos drabbade individer.

PLH-cellinjen ingick i panelen från Fourth Asia-Oceania Histocompatibility Workshop (4AOHW), som syftade till att tillhandahålla en väl karakteriserad uppsättning EBV-transformerade lymfoblastoidcellinjer som representerar olika MHC-alleler och haplotyper. Dessa paneler utgör viktiga resurser för histokompatibilitetsstudier, utveckling av HLA-typning och immunogenetisk forskning. Valet av PLH för att ingå i 4AOHW återspeglade dess unika MHC-genotyp och sjukdomsrelevans, vilket bidrar till både standardiseringen av HLA-alleltilldelningar och studier som utforskar den genetiska arkitekturen för immunrelaterade sjukdomar.

Organism

Människan

Tissue

Binjurebarken

Disease

Klassisk kongenital binjurebarkshyperplasi på grund av 21-hydroxylasbrist

Metastatic site

Perifert blod

Egenskaper

Age

Ospecificerad

Gender

Kvinna

Ethnicity

Skandinavisk

Morphology

Lymfoblast

Cell type

B Cell

Growth properties

Avstängning

PLH-celler | 302137

Lagstadgade uppgifter

Citation	PLH (Cytion katalognummer 302137)
-----------------	-----------------------------------

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_E810
-----------------------------	-----------

Biomolekylära data

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

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Subculturing	Homogenisera försiktigt cellsuspensionen i kolven genom att pipettera upp och ner och ta sedan ett representativt prov för att bestämma celldensiteten per ml. Späd suspensionen för att uppnå en cellkoncentration på 1×10^5 celler/ml med färskt odlingsmedium och alikvota den justerade suspensionen till nya kolvar för vidare odling.
---------------------	--

Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium används komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
----------------------	--

PLH-celler | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

PLH-celler | 302137

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.