PLH

302137

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

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 gendelesjoner 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 (4AOHW)-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 4AOHW 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.

Vev	Binyrene
Sykdom	Klassisk medfødt binyrebarkhyperplasi på grunn av 21-hydroksylasemangel
Metastaseområde	Perifert blod

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Kvinne
Vekstegenskaper	Oppheng

EGENSKAPER

Morfologi	Lymfoblast
Celletype	B Cell

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

PLH (Cytion katalognummer 302137)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_E810

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Virus

Epstein-Barr-virus (EBV)

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

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

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Subkultivering

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 x 10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.

Tining og dyrking

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

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.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

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.

Fraktvilkår

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

DONOR

Donorens alder	Uspesifisert
Etnisitet	Skandinavisk, kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes