

## PLN клетки | 302137

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия PLN е трансформирана с вируса на Епщайн-Барр (EBV) човешка лимфобластоидна клетъчна линия, получена от пациент с вродена надбъбречна хиперплазия (CAH), дължаща се на дефицит на стероидна 21-хидроксилаза (21-OHase). Това автозомно-рецесивно заболяване, което нарушава биосинтезата на кортизол, е силно свързано със специфични HLA хаплотипове, по-специално HLA-Bw47;DR7. Линията PLN е хомозиготна за този хаплотип и е използвана като генетичен модел за изследване на молекулярната основа на дефицита на 21-OHase. Тя е особено ценна за изучаване на генните делеции, засягащи гена на цитохром P-450C21, който е отговорен за 21-хидроксилирането, решаваща стъпка в производството на кортизол. Молекулярните анализи, използващи ДНК сонди, потвърдиха, че PLN клетките показват хомозиготна делеция на един от двата P-450C21 гена, което съответства на загубата на 21-хидроксилазна активност, наблюдавана при засегнатите индивиди.

Клетъчната линия PLN е част от панела на Четвъртия азиатско-океански семинар по хистосъвместимост (4AONW), който има за цел да осигури добре характеризирани набор от лимфобластоидни клетъчни линии, трансформирани от EBV, представляващи различни MHC алели и хаплотипове. Тези панели служат като основни ресурси за проучвания на хистосъвместимостта, разработване на HLA типизация и имуногенетични изследвания. Изборът на PLN за включване в 4AONW отразява неговия уникален MHC генотип и значението му за заболяванията, като допринася както за стандартизирането на разпределението на HLA алелите, така и за проучванията, изследващи генетичната структура на свързаните с имунната система нарушения.

## Organism

Човек

## Tissue

Надбъбречна жлеза

## Disease

Класическа вродена надбъбречна хиперплазия, дължаща се на дефицит на 21-хидроксилаза

## Metastatic site

Периферна кръв

## Характеристики

## Age

Неуточнено

## Gender

Жена

## Ethnicity

Скандинавски, кавказки

## Morphology

Лимфобласт

## Cell type

Клетка B

## PLH клетки | 302137

**Growth properties**      Окачване

**Регулаторни данни**

**Citation**      PLH (каталожен номер 302137 на Cytion)

**NCBI\_TaxID**      9606

**CellosaurusAccession**      CVCL\_E810

**Биомолекулярни данни**

**Viruses**      Вирус на Епщайн-Барр (EBV)

**Работа с**

**Culture Medium**      RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)

**Supplements**      Допълнете средата с 10% FBS

**Subculturing**      Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата, като я пипетирате нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разрежете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от  $1 \times 10^5$  клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.

**Freeze medium**      Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## PLH клетки | 302137

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## PLH клетки | 302137

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.