

Células PLH | 302137

Información general

Description

La línea celular PLH es una línea celular linfoblastoide humana transformada por el virus de Epstein-Barr (VEB) derivada de un paciente con hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) debida al déficit de esteroides 21-hidroxilasa (21-OHase). Este trastorno autosómico recesivo, que afecta a la biosíntesis de cortisol, está fuertemente ligado a haplotipos HLA específicos, en particular HLA-Bw47;DR7. La línea PLH es homocigota para este haplotipo y se ha utilizado como modelo genético para investigar las bases moleculares de la deficiencia de 21-OHase. Es especialmente valiosa para estudiar las deleciones génicas que afectan al gen del citocromo P-450C21, responsable de la 21-hidroxilación, un paso crucial en la producción de cortisol. Los análisis moleculares realizados con sondas de ADN confirmaron que las células PLH presentan una deleción homocigótica de uno de los dos genes P-450C21, lo que concuerda con la pérdida de actividad de la 21-hidroxilasa observada en los individuos afectados.

La línea celular PLH formaba parte del panel del Cuarto Taller de Histocompatibilidad Asia-Oceanía (4AOHW), cuyo objetivo era proporcionar un conjunto bien caracterizado de líneas celulares linfoblastoides transformadas por el VEB que representaran diversos alelos y haplotipos del CMH. Estos paneles sirven como recursos esenciales para los estudios de histocompatibilidad, el desarrollo de tipificación HLA y la investigación inmunogenética. La selección de PLH para su inclusión en el 4AOHW refleja su genotipo MHC único y su relevancia para la enfermedad, contribuyendo tanto a la estandarización de las asignaciones de alelos HLA como a los estudios que exploran la arquitectura genética de los trastornos relacionados con la inmunidad.

Organism

Humano

Tissue

Glándula suprarrenal

Disease

Hiperplasia suprarrenal congénita clásica por deficiencia de 21-hidroxilasa

Metastatic site

Sangre periférica

Características

Age

Sin especificar

Gender

Mujer

Ethnicity

Escandinavo

Morphology

Linfoblasto

Cell type

Celda B

Growth properties

Suspensión

Células PLH | 302137**Datos reglamentarios****Citation** PLH (número de catálogo de Cytion 302137)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E810**Datos biomoleculares****Viruses** Virus de Epstein-Barr (VEB)**Manejo de****Culture Medium** RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820700a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Subculturing** Homogeneizar suavemente la suspensión celular en el matraz pipeteando arriba y abajo y, a continuación, tomar una muestra representativa para determinar la densidad celular por ml. Diluir la suspensión hasta alcanzar una concentración celular de 1×10^5 células/ml con medio de cultivo fresco, y alicuotar la suspensión ajustada en nuevos matraces para su posterior cultivo.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilice el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células PLH | 302137

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.