

Células PLH | 302137

Informações gerais

Description

A linha celular PLH é uma linha celular linfoblastóide humana transformada pelo vírus Epstein-Barr (EBV), derivada de um doente com hiperplasia congénita da suprarrenal (CAH) devido a uma deficiência de esteroide 21-hidroxilase (21-OHase). Esta doença autossómica recessiva, que prejudica a biossíntese do cortisol, está fortemente ligada a haplótipos HLA específicos, particularmente HLA-Bw47;DR7. A linha PLH é homocigótica para este haplótipo e tem sido utilizada como modelo genético para investigar a base molecular da deficiência de 21-OHase. É especialmente valiosa no estudo de deleções genéticas que afectam o gene do citocromo P-450C21, que é responsável pela 21-hidroxilação, um passo crucial na produção de cortisol. As análises moleculares utilizando sondas de ADN confirmaram que as células PLH apresentam uma deleção homocigótica de um dos dois genes P-450C21, consistente com a perda da atividade da 21-hidroxilase observada nos indivíduos afectados.

A linha celular PLH fazia parte do painel do Quarto Workshop de Histocompatibilidade Ásia-Oceânia (4AOHW), que tinha como objetivo fornecer um conjunto bem caracterizado de linhas celulares linfoblastóides transformadas por EBV, representando diversos alelos e haplótipos do MHC. Estes painéis servem como recursos essenciais para estudos de histocompatibilidade, desenvolvimento de tipagem HLA e investigação imunogenética. A seleção de PLH para inclusão no 4AOHW reflectiu o seu genótipo MHC único e a relevância da doença, contribuindo para a normalização das atribuições de alelos HLA e para estudos que exploram a arquitetura genética de doenças relacionadas com o sistema imunitário.

Organism

Humano

Tissue

Glândula adrenal

Disease

Hiperplasia suprarrenal congénita clássica devida a deficiência de 21-hidroxilase

Metastatic site

Sangue periférico

Caraterísticas

Age

Não especificado

Gender

Feminino

Ethnicity

escandinavo

Morphology

Linfoblasto

Cell type

Célula B

Growth properties

Suspensão

Células PLH | 302137**Dados regulamentares****Citation** PLH (número de catálogo Cytion 302137)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E810**Dados biomoleculares****Viruses** Vírus Epstein-Barr (EBV)**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Subculturing** Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco, pipetando para cima e para baixo; em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão com meio de cultura fresco até atingir uma concentração celular de 1×10^5 células/ml e distribua a suspensão ajustada em frascos novos para continuação do cultivo.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilize um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células PLH | 302137

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.