

Células PLH | 302137

Información general

Description

La línea celular PLH es una línea de células linfoblastoides humanas transformadas por el virus de Epstein-Barr (VEB), derivada de un paciente con hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) debida a una deficiencia de la 21-hidroxilasa esteroidea (21-OHase). Este trastorno autosómico recesivo, que altera la biosíntesis del cortisol, está estrechamente relacionado con haplotipos HLA específicos, en particular el HLA-Bw47;DR7. La línea PLH es homocigótica para este haplotipo y se ha utilizado como modelo genético para investigar la base molecular de la deficiencia de 21-OHase. Resulta especialmente valiosa para estudiar las delecciones genéticas que afectan al gen del citocromo P-450C21, responsable de la 21-hidroxilación, un paso crucial en la producción de cortisol. Los análisis moleculares con sondas de ADN confirmaron que las células PLH presentan una delección homocigótica de uno de los dos genes P-450C21, lo cual concuerda con la pérdida de actividad de la 21-hidroxilasa observada en los individuos afectados.

La línea celular PLH formó parte del panel del Cuarto Taller de Histocompatibilidad de Asia y 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 MHC. Estos paneles sirven como recursos esenciales para estudios de histocompatibilidad, el desarrollo de la tipificación de HLA y la investigación en inmunogenética. La selección de PLH para su inclusión en el 4AOHW reflejó su genotipo único del MHC y su relevancia para la enfermedad, lo que contribuyó tanto a la estandarización de las asignaciones de alelos de HLA como a los estudios que exploran la arquitectura genética de los trastornos relacionados con el sistema inmunológico.

Organism

Humano

Tissue

Glándula suprarrenal

Disease

Hiperplasia suprarrenal congénita clásica debida a deficiencia de 21-hidroxilasa

Metastatic site

Sangre periférica

Características

Age

Sin especificar

Gender

Mujer

Ethnicity

Escandinavo, caucásico

Morphology

Linfoblasto

Cell type

Célula B

Células PLH | 302137

Growth
properties

Suspensión

Datos normativos

Citation PLH (número de catálogo de Cytion 302137)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_E810

Datos biomoleculares

Viruses Virus de Epstein-Barr (VEB)

Manejo

Culture Medium RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion: 820700a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Subculturing** Homogeneice suavemente la suspensión celular en el matraz pipeteando de arriba hacia abajo; luego, tome una muestra representativa para determinar la densidad celular por ml. Diluya la suspensión con medio de cultivo fresco hasta alcanzar una concentración celular de 1×10^5 células/ml, y divida la suspensión ajustada en alícuotas en matraces nuevos para continuar con el cultivo.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78°C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196°C , aproximadamente. El almacenamiento a -80°C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células PLH | 302137

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.