

Células PLH | 302137

Informações gerais

Description

A linhagem celular PLH é uma linhagem de células linfoblastoides humanas transformadas pelo vírus de Epstein-Barr (EBV), derivada de um paciente com hiperplasia adrenal congênita (HAC) devido à deficiência da 21-hidroxilase de esteróides (21-OHase). Essa doença autossômica recessiva, que prejudica a biossíntese do cortisol, está fortemente associada a haplótipos específicos do HLA, particularmente o HLA-Bw47;DR7. A linha PLH é homozigótica para esse haplótipo e tem sido utilizada como modelo genético para investigar a base molecular da deficiência de 21-OHase. Ela é especialmente valiosa no estudo de deleções genéticas que afetam o gene do citocromo P-450C21, responsável pela 21-hidroxilação, uma etapa crucial na produção de cortisol. Análises moleculares utilizando sondas de DNA confirmaram que as células PLH apresentam uma deleção homozigótica de um dos dois genes P-450C21, o que é consistente com a perda da atividade da 21-hidroxilase observada em indivíduos afetados.

A linhagem celular PLH fez parte do painel do Quarto Workshop de Histocompatibilidade da Ásia-Oceania (4AOHW), que teve como objetivo fornecer um conjunto bem caracterizado de linhagens de células linfoblastoides transformadas pelo EBV, representando diversos alelos e haplótipos do MHC. Esses painéis servem como recursos essenciais para estudos de histocompatibilidade, desenvolvimento de tipagem de HLA e pesquisa em imunogenética. A seleção da PLH para inclusão no 4AOHW refletiu seu genótipo MHC único e sua relevância para a doença, contribuindo tanto para a padronização das atribuições de alelos de HLA quanto para estudos que exploram a arquitetura genética de doenças relacionadas ao sistema imunológico.

Organism

Humano

Tissue

Glândula adrenal

Disease

Hiperplasia adrenal congênita clássica devido à deficiência de 21-hidroxilase

Metastatic site

Sangue periférico

Características

Age

Não especificado

Gender

Mulher

Ethnicity

escandinavo, caucasiano

Morphology

Linfoblasto

Cell type

Célula B

Growth properties

Suspensão

Células PLH | 302137**Dados regulatórios**

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

Dados biomoleculares

Viruses	Vírus de Epstein-Barr (EBV)
----------------	-----------------------------

Manuseio

Culture Medium	RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Subculturing	Homogeneíze suavemente a suspensão celular no frasco por meio de pipetagem para cima e para baixo e, em seguida, colete 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 alíquotas em novos frascos para continuação do cultivo.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células PLH | 302137

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células PLH | 302137

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.