Product sheet

6T-CEM-solut | 305132

Yleisiä tietoja

Description	6T-CEM-solulinja on ihmisen akuutin lymfoblastileukemian (ALL) T-solulinjan CCRF-CEM mutanttijohdannainen. Se kehitettiin altistamalla CEM:n kantasolut 6-tioguaniinille, jolloin valittiin alalinja, joka on resistentti tälle yhdisteelle. Resistenssi johtuu HPRT-geenin inaktivaatiosta, joka on kriittinen tekijä puriinien pelastusreitillä. 6T-CEM-solut ovat olleet erityisen arvokkaita lääkeresistenssimekanismien tutkimisessa, erityisesti 6-tioguaniinin kaltaisten puriinianalogien osalta. Lisäksi näille soluille on ominaista, että ne erittävät ainutlaatuista T-solujen suppressor-induktoritekijää (SIF), joka ei ole ainoastaan ei-mitogeeninen ja ei-sytotoksinen, vaan kykenee myös tukahduttamaan T-solujen proliferaatiota ja säästämään B-solujen proliferaatiota tietyillä laimennuksilla. 6T-CEM-solut ja niiden alakloonit, kuten 6T-CEM-20, ovat osoittaneet, että tämän suppressori-induktoritekijän tuotanto lisääntyy merkittävästi, ja sillä on potentiaalisia sovelluksia immunologisessa tutkimuksessa, erityisesti T-solujen säätelyn ja immunosuppression tutkimuksessa. Näiden solujen erittämän SIF:n on osoitettu tukahduttavan jopa 90 prosenttia mitogeenin aiheuttamasta T-solujen proliferaatiosta erittäin suurilla laimennoksilla (jopa 10^-9), mikä tekee näistä soluista tehokkaan mallin sellaisten terapeuttisten strategioiden tutkimiseen, joihin liittyy immuunivasteen modulointi. Näiden solujen käyttö erilaisissa koejärjestelyissä on tarjonnut tietoa immuunisuppression molekulaarisista perusteista, millä voi olla vaikutusta autoimmuunisairauksien hoitojen kehittämiseen ja elinsiirtojen yhteydessä siirteen hylkimisen estämiseen.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	T-soluinen akuutti lymfaattinen leukemia
Synonyms	6-T CEM

Ominaisuudet

Age	4 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Aasialainen
Morphology	Lymfoblastit
Growth properties	Jousitus

Sääntelytiedot

6T-CEM-solut | 305132

Citation	6T-CEM (Cytionin tuotenumero 305132)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6869

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w/o: Ribonukleosidit, w/o: Deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2g/L NaHCO3
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Subculturing	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1 x 10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

6T-CEM-solut | 305132

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.