

cellule 6T-CEM | 305132

Informazioni generali

Description

La linea cellulare 6T-CEM è un derivato mutante della linea di cellule T della leucemia linfoblastica acuta umana (ALL) CCRF-CEM. È stata sviluppata esponendo le cellule CEM parentali alla 6-tioguanina, con la conseguente selezione di una sottoclasse che presenta resistenza a questo composto. Questa resistenza è il risultato dell'inattivazione del gene HPRT, critico nella via di salvataggio delle purine. Le cellule 6T-CEM si sono rivelate particolarmente preziose per lo studio dei meccanismi di resistenza ai farmaci, soprattutto per quanto riguarda gli analoghi delle purine come la 6-tioguanina. Inoltre, queste cellule sono caratterizzate dalla secrezione di un fattore induttore di soppressione delle cellule T (SIF) unico nel suo genere, che non solo non è mitogeno e non è citotossico, ma è anche in grado di sopprimere la proliferazione delle cellule T risparmiando quella delle cellule B a determinate diluizioni.

Le cellule 6T-CEM e i loro sottoclone, come le 6T-CEM-20, hanno mostrato un aumento significativo della produzione di questo fattore induttore-soppressore, che ha potenziali applicazioni nella ricerca immunologica, in particolare nello studio della regolazione delle cellule T e della soppressione immunitaria. È stato dimostrato che il SIF secreto da queste cellule è in grado di sopprimere fino al 90% della proliferazione delle cellule T indotta da mitogeni a diluizioni estremamente elevate (fino a 10^{-9}), rendendo queste cellule un potente modello per l'esplorazione di strategie terapeutiche che prevedono la modulazione della risposta immunitaria. L'uso di queste cellule in vari setup sperimentali ha fornito approfondimenti sulle basi molecolari della soppressione immunitaria, con potenziali implicazioni per lo sviluppo di trattamenti per le malattie autoimmuni e nel contesto del trapianto di organi per prevenire il rigetto dell'innesto.

Organism Umano

Tissue Sangue periferico

Disease Leucemia linfoblastica acuta a cellule T

Synonyms 6-T CEM

Caratteristiche

Age 4 anni

Gender Donna

Ethnicity Asiatico

Morphology Linfoblasto

Growth properties Sospensione

cellule 6T-CEM | 305132

Dati normativi

Citation	6T-CEM (numero di catalogo Cytion 305132)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6869

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w/o: Ribonucleosidi, w/o: Desossiribonucleosidi, w: 1,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2g/L NaHCO ₃
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Subculturing	Omogeneizzare delicatamente la sospensione cellulare nel pallone pipettando verso l'alto e verso il basso, quindi prelevare un campione rappresentativo per determinare la densità cellulare per ml. Diluire la sospensione per ottenere una concentrazione cellulare di 1×10^5 cellule/ml con terreno di coltura fresco e aliquotare la sospensione regolata in nuovi palloni per l'ulteriore coltivazione.
Split ratio	da 1:2 a 1:4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

cellule 6T-CEM | 305132

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

**Freezing
Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

cellule 6T-CEM | 305132

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 11,12
D16S539: 10,13
D5S818: 11,13
D7S820: 9,14
TH01: 6,7
TPOX: 8
vWA: 17,19
D3S1358: 15
D21S11: 31,33.2
D18S51: 13,18
Penta E: 5,14
Penta D: 11
D8S1179: 13
FGA: 23,24
D6S1043: 11,14
D2S1338: 24
D12S391: 17,18,20,21
D19S433: 14,15