

## 6T-CEM šūnas | 305132

## Vispārīga informācija

## Description

6T-CEM šūnu līnija ir cilvēka akūtās limfoblastiskās leikēmijas (ALL) T-šūnu līnijas CCRF-CEM mutants atvasinājums. To izveidoja, pakļaujot vecākās CEM šūnas 6-tioguanīna iedarbībai, kā rezultātā tika atlasīta apakšlīnija, kas uzrāda rezistenci pret šo savienojumu. Šī rezistence ir HPRT gēna, kas ir ļoti svarīgs purīnu glābšanas ceļā, inaktivācijas rezultāts. 6T-CEM šūnas ir īpaši vērtīgas zāļu rezistences mehānismu izpētē, jo īpaši attiecībā uz tādiem purīna analogiem kā 6thioguanīns. Turklāt šīm šūnām ir raksturīga unikāla T-šūnu supresoru inducējošā faktora (SIF) sekrēcija, kas ir ne tikai nemitogēns un necitotoksisks, bet arī spēj nomākt T-šūnu proliferāciju, vienlaikus zināmos atšķaidījumos saudzējot B-šūnu proliferāciju.

6T-CEM šūnās un to sublonos, piemēram, 6T-CEM-20, ir ievērojami palielinājusies šī supresoru inducējošā faktora ražošana, ko var izmantot imunoloģiskajos pētījumos, jo īpaši T šūnu regulācijas un imūnās nomākšanas pētījumos. Ir pierādīts, ka šo šūnu izdalītais SIF nomāc līdz pat 90 % mitogēnu inducētas T šūnu proliferācijas pie ļoti lieliem atšķaidījumiem (līdz  $10^{-9}$ ), padarot šīs šūnas par spēcīgu modeli terapeitisko stratēģiju izpētei, kas ietver imūnās atbildes reakcijas modulāciju. Šo šūnu izmantošana dažādās eksperimentālās iekārtās ir ļāvusi gūt ieskatu imūnās nomākšanas molekulārajos pamatos, kas potenciāli var ietekmēt autoimūno slimību ārstēšanas metožu izstrādi un orgānu transplantācijas kontekstā, lai novērstu transplantāta noraidīšanu.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Perifērās asinis

**Disease** T-šūnu akūtā limfoblastiskā leikēmija

**Synonyms** 6-T CEM

## Raksturojums

**Age** 4 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Āzijas

**Morphology** Limfoblasts

**Growth properties** Apturēšana

## Normatīvie dati

**Citation** 6T-CEM (Cytion kataloga numurs 305132)

## 6T-CEM šūnas | 305132

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_6869

### Biomolekulārie dati

#### Darbs ar

**Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija pīruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Subculturing** Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju  $1 \times 10^5$  šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## 6T-CEM šūnas | 305132

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## 6T-CEM šūnas | 305132

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.