

6T-CEM-celler | 305132**Generell informasjon****Description**

6T-CEM-cellelinjen er et mutert derivat av den humane T-cellelinjen CCRF-CEM for akutt lymfoblastisk leukemi (ALL). Den ble utviklet ved å eksponere de opprinnelige CEM-cellene for 6-thioguanin, noe som førte til seleksjon av en sublinje som utviser resistens mot denne forbindelsen. Denne resistensen skyldes inaktivering av HPRT-genet, som er kritisk i purinbergingsveien. 6T-CEM-cellene har vært spesielt verdifulle i studier av resistensmekanismer, særlig når det gjelder purinanaloger som 6-thioguanin. I tillegg kjennetegnes disse cellene av at de skiller ut en unik T-celle-suppressorinduktorfaktor (SIF), som ikke bare er ikke-mitogen og ikke-cytotoksisk, men som også er i stand til å undertrykke T-celleproliferasjon samtidig som den skåner B-celleproliferasjon ved visse fortyninger.

6T-CEM-celler og deres subkloner, som 6T-CEM-20, har vist en betydelig økning i produksjonen av denne suppressor-induktorfaktoren, som har potensielle bruksområder i immunologisk forskning, særlig i studier av T-celleregulering og immunsuppresjon. SIF som skiller ut av disse cellene, har vist seg å undertrykke opptil 90 % av mitogenindusert T-celleproliferasjon ved ekstremt høye fortyninger (opptil 10^{-9}), noe som gjør disse cellene til en potent modell for utforskning av terapeutiske strategier som innebærer modulering av immunresponsen. Bruken av disse cellene i ulike eksperimentelle oppsett har gitt innsikt i de molekylære forutsetningene for immunsuppresjon, med potensielle implikasjoner for utviklingen av behandlinger for autoimmune sykdommer og i forbindelse med organtransplantasjon for å forhindre avstøtning av transplantatet.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

T-celle akutt lymfoblastisk leukemi

Synonyms

6-T CEM

Kjennetegn**Age**

4 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Asiatisk

Morphology

Lymfoblast

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

6T-CEM-celler | 305132**Citation** 6T-CEM (Cytion-katalognummer 305132)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6869**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** Alpha MEM, m: 2,0 mM stabilt glutamin, uten: Ribonukleosider, m/o: Deoksyribonukleosider, m: 1,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Subculturing** Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celledettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på 1×10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

6T-CEM-celler | 305132

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

6T-CEM-celler | 305132

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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