

células 6T-CEM | 305132**Informações gerais****Description**

A linha de células 6T-CEM é um derivado mutante da linha de células T da leucemia linfoblástica aguda (LLA) humana CCRF-CEM. Foi desenvolvida expondo as células parentais CEM à 6-tioguanina, o que levou à seleção de uma sub-linhagem que apresenta resistência a este composto. Esta resistência resulta da inativação do gene HPRT, que é fundamental na via de recuperação das purinas. As células 6T-CEM têm sido particularmente valiosas no estudo dos mecanismos de resistência aos medicamentos, especialmente no que respeita aos análogos da purina, como a 6-tioguanina. Além disso, estas células caracterizam-se pela sua secreção de um fator indutor supressor de células T (SIF) único, que não só não é mitogénico e não é citotóxico, como também é capaz de suprimir a proliferação de células T, poupando a proliferação de células B em determinadas diluições.

as células 6T-CEM e os seus subclones, como a 6T-CEM-20, revelaram um aumento significativo da produção deste fator supressor-indutor, que tem aplicações potenciais na investigação imunológica, nomeadamente no estudo da regulação das células T e da imunossupressão. O SIF segregado por estas células demonstrou suprimir até 90% da proliferação de células T induzida por mitogénios a diluições extremamente elevadas (até 10^{-9}), o que faz destas células um modelo potente para a exploração de estratégias terapêuticas que envolvam a modulação da resposta imunitária. A utilização destas células em várias configurações experimentais permitiu compreender os fundamentos moleculares da supressão imunitária, com potenciais implicações para o desenvolvimento de tratamentos para doenças auto-imunes e no contexto do transplante de órgãos para evitar a rejeição do enxerto.

Organism Humano**Tissue** Sangue periférico**Disease** Leucemia linfoblástica aguda de células T**Synonyms** 6-T CEM**Caraterísticas****Age** 4 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Asiático**Morphology** Linfoblasto**Growth properties** Suspensão**Dados regulamentares**

células 6T-CEM | 305132**Citation** 6T-CEM (número de catálogo Cytion 305132)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6869**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** MEM alfa, com: Glutamina estável a 2,0 mM, sem: Ribonucleósidos, s/: Desoxirribonucleósidos, u: 1,0 mM Piruvato de sódio, u: 2,2g/L NaHCO₃**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Subculturing** Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco pipetando para cima e para baixo e, em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão para atingir uma concentração celular de 1×10^5 células/ml com meio de cultura fresco e alique a suspensão ajustada em novos frascos para cultivo adicional.**Split ratio** 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

células 6T-CEM | 305132

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

células 6T-CEM | 305132

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil 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