

Клетки SKW-3 | 300343

Обща информация

Description

Клетъчната линия SKW-3, за която първоначално се смяташе, че е получена от периферната кръв на 61-годишен мъж, диагностициран с хронична лимфоцитна левкемия (ХЛЛ), представлява значителен интерес в изследванията на рака, особено в проучването на В-клетъчните левкемии. С течение на времето критичните преоценки, използващи профилиране на къси тандемни повторения (STR), осветлиха един важен въпрос - клетките SKW-3 не са чиста линия от пациента с CLL, а вместо това са замърсени, сега идентифицирани като производни на клетъчната линия KE-37. Това разкритие има дълбоки последици за минали и бъдещи изследвания, като подчертава необходимостта от стриктно удостоверяване на клетъчните линии, за да се гарантира експерименталната точност.

KE-37, истинският произход на клетките SKW-3, е В-клетъчна линия, създадена от пациент с остра лимфобластна левкемия (ОЛЛ). Тази промяна в произхода от CLL към ALL, дължаща се на замърсяване, драстично променя биологичния контекст и полезността на линията SKW-3. За изследователите това означава, че всички констатации или данни, които преди това са били приписвани на специфични за CLL механизми при използването на SKW-3, трябва да бъдат критично оценени и евентуално преразгледани. Прекласифицирането в производно на KE-37 налага промяна в приложението на клетките SKW-3 към изследвания, които са по-подходящи за ALL и нейните основни механизми, а не за CLL.

Organism

Човек

Tissue

Хематопоеични

Disease

Т-клетъчна левкемия (CLL)

Synonyms

SKW3

Характеристики

Age

27 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Кръгли клетки

Cell type

Т лимфоцит

Growth properties

Окачване

Клетки SKW-3 | 300343

Регулаторни данни

Citation	SKW-3 (каталожен номер 300343 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2197

Биомолекулярни данни

Antigen expression	CD2+, CD3-, CD4+, CD8, Thy-1-подобен антиген
Products	LECT2 (хемотактичен протеин)

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS
Doubling time	30 часа
Subculturing	Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 5×10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 3×10^5 до 1×10^6 клетки/ml за оптимален растеж.
Post-Thaw Recovery	1×10^5 /мл
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки SKW-3 | 300343

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимицробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки SKW-3 | 300343

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Профил на STR

CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,12
D16S539: 11,12
D5S818: 12,13
D7S820: 8,12
TH01: 6,9,3
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 15,18
D21S11: 28, 29, 39
D18S51: 13,18
Penta E: 5,14
Penta D: 11:15
D8S1179: 11,14
FGA: 24, 25
D1S1656: 15.3,16
D6S1043: 18,21
D2S1338: 19,25
D12S391: 19,22
D19S433: 13:15

Клетки SKW-3 | 300343

HLA алели

A*: '11:01:01, '30:01:01

B*: '35:01:01, '44:02:01

C*: '04:01:01, '05:01:01

DRB1*: '01:03:01, '04:01:01

DQA1*: '01:01:01, '03:03:01

DQB1*: '03:01, '05:01

DPB1*: '04:01:01, '04:02:01

E: '01:01:01