

Buňky SKW-3 | 300343

Obecné informace

Description

Buněčná linie SKW-3, o níž se původně předpokládalo, že byla získána z periferní krve 61letého muže s diagnózou chronické lymfocytární leukemie (CLL), představuje významný bod zájmu ve výzkumu rakoviny, zejména při studiu B-buněčných leukemií. Postupem času kritické přehodnocení pomocí profilování krátkých tandemových repetitiv (STR) osvětlilo důležitý problém - buňky SKW-3 nejsou čistou linií od pacienta s CLL, ale jsou kontaminované, nyní identifikované jako derivát buněčné linie KE-37. Toto odhalení má hluboké důsledky pro dosavadní výzkum a budoucí studie a zdůrazňuje potřebu důsledné autentizace buněčných linií, aby byla zajištěna experimentální přesnost.

KE-37, skutečný původ buněk SKW-3, je linie B-buněk vytvořená u pacienta s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). Tento posun v původu z CLL na ALL v důsledku kontaminace drasticky mění biologický kontext a užitečnost linie SKW-3. Pro výzkumné pracovníky to znamená, že veškerá zjištění nebo údaje, které byly dříve přisuzovány mechanismům specifickým pro CLL, musí být při použití linie SKW-3 kriticky zhodnoceny a případně revidovány. Překlasifikace na derivát KE-37 vyžaduje posun v použití buněk SKW-3 směrem ke studiím, které se více týkají ALL a jejich základních mechanismů, než CLL.

Organism

Člověk

Tissue

Hematopoetické

Disease

T-buněčná leukémie (CLL)

Synonyms

SKW3

Charakteristika

Age

27 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Kulaté buňky

Cell type

T lymfocyt

Growth properties

Zavěšení

Regulační údaje

Buňky SKW-3 | 300343

Citation SKW-3 (katalogové číslo Cytion 300343)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2197

Biomolekulární data

Antigen expression CD2+, CD3-, CD4+, CD8, Thy-1-like antigen

Products LECT2 (chemotaktický protein)

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplněte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS

Doubling time 30 hodin

Subculturing Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.

Post-Thaw Recovery 1×10^5 /ml

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky SKW-3 | 300343**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SKW-3 | 300343**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil 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

Alely HLA

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