

SKW-3 rakud | 300343

Üldine teave

Description

SKW-3 rakuliin, mis on algselt arvatavasti pärit 61-aastase mehe perifeersest verest, kellel on diagnoositud krooniline lümfotsütaarne leukeemia (CLL), kujutab endast olulist huvi vähiuuringute, eriti B-rakkude leukeemiate uurimisel. Aja jooksul on lühikeste tandemkorduste (STR) profiilide abil tehtud kriitilised ümberhindamised valgustanud olulist küsimust - KW-3 rakud ei ole CLL-patsiendi puhas liin, vaid on hoopis saastunud, nüüdseks on need identifitseeritud KE-37 rakuliini derivaadina. See avastus mõjutab põhjalikult varasemaid ja tulevase uuringuid, rõhutades, et katsete täpsuse tagamiseks on vaja ranget rakuliini autentimist.

KE-37, SKW-3 rakkude tegelik päritolu, on B-rakkude liin, mis on loodud ägeda lümfoblastilise leukeemiaga (ALL) patsiendilt. See päritolumuutus CLL-ist ALL-iks, mis on tingitud saastumisest, muudab oluliselt SKW-3 liini bioloogilist konteksti ja kasulikkust. Teadlaste jaoks tähendab see, et kõiki varem CLL-spetsiifilistele mehhanismidele omistatud tulemusi või andmeid SKW-3 kasutamisel tuleb kriitiliselt hinnata ja potentsiaalselt üle vaadata. Ümberklassifitseerimine KE-37 derivaadiks tingib vajaduse SKW-3 rakkude kasutamise muutmise, et uurida pigem ALL-i ja selle aluseks olevaid mehhanisme kui CLL-i.

Organism Inimene

Tissue Hematopoeetiline

Disease T-rakuline leukeemia (CLL)

Synonyms SKW3

Omadused

Age 27 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Ümmargused rakud

Cell type T-lümfotsüüt

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation SKW-3 (Cytioni katalooginumber 300343)

SKW-3 rakud | 300343

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2197**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** CD2+, CD3-, CD4+, CD8, Thy-1-sarnane antigeen**Products** LECT2 (kemotaktiline valk)**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Doubling time** 30 tundi**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Post-Thaw Recovery** 1×10^5 /ml**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SKW-3 rakud | 300343

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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

HLA alleles

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