

SKW-3-solut | 300343

Yleisiä tietoja

Description

SKW-3-solulinja, jonka alun perin uskottiin olevan peräisin kroonista lymfaattista leukemiaa (CLL) sairastaneen 61-vuotiaan miehen perifeerisestä verestä, on merkittävä kiinnostuksen kohde syöpätutkimuksessa ja erityisesti B-soluleukemioiden tutkimuksessa. Ajan mittaan kriittiset uudelleenarvioinnit, joissa käytettiin lyhyen tandemtoiston (STR) profiloointia, ovat paljastaneet tärkeän ongelman -KW-3-solut eivät ole puhdas linja CLL-potilaalta, vaan ne ovat sen sijaan saastuneita, ja ne on nyt tunnistettu KE-37-solulinjan johdannaiseksi. Tällä paljastuksella on syvällisiä vaikutuksia aiempaan tutkimukseen ja tuleviin tutkimuksiin, ja se korostaa tarvetta tiukkaan solulinjan todennukseen kokeellisen tarkkuuden varmistamiseksi.

KE-37, SKW-3-solujen todellinen alkuperä, on akuuttia lymfoblastileukemiaa (ALL) sairastavasta potilaasta peräisin oleva B-solulinja. Tämä kontaminaation aiheuttama alkuperän siirtyminen CLL:stä ALL:ksi muuttaa merkittävästi SKW-3-linjan biologista kontekstia ja käyttökelpoisuutta. Tutkijoiden kannalta tämä tarkoittaa, että kaikkia SKW-3-linjaa käytettäessä aiemmin CLL-spesifisiin mekanismeihin liitettyjä havaintoja tai tietoja on arvioitava kriittisesti ja mahdollisesti tarkistettava. Luokituksen muuttaminen KE-37:n johdannaiseksi edellyttää SKW-3-solujen käytön siirtämistä tutkimuksiin, jotka liittyvät enemmän ALL:n ja sen taustalla olevien mekanismien kuin CLL:n tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Hematopoieettinen

Disease T-soluleukemia (CLL)

Synonyms SKW3

Ominaisuudet

Age 27 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Pyöreät kennot

Cell type T-lymfosyytti

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

SKW-3-solut | 300343

Citation	SKW-3 (Cytionin luettelonumero 300343)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2197
-----------------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Antigen expression	CD2+, CD3-, CD4+, CD8, Thy-1-kaltainen antigeeni
---------------------------	--

Products	LECT2 (kemotaktinen proteiini)
-----------------	--------------------------------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
--------------------	---

Doubling time	30 tuntia
----------------------	-----------

Subculturing	Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä 3×10^5 – 1×10^6 solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.
---------------------	---

Post-Thaw Recovery	1×10^5 /ml
---------------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

SKW-3-solut | 300343

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välvaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

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-alleelit

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