

Cellule SKW-3 | 300343

Informazioni generali

Description

La linea cellulare SKW-3, originariamente ritenuta derivata dal sangue periferico di un uomo di 61 anni a cui era stata diagnosticata la leucemia linfocitica cronica (LLC), rappresenta un punto di interesse significativo nella ricerca sul cancro, in particolare nello studio delle leucemie a cellule B. Nel corso del tempo, le rivalutazioni critiche effettuate con il profilo delle ripetizioni in tandem brevi (STR) hanno messo in luce una questione importante: le cellule SKW-3 non sono una linea pura proveniente dal paziente con LLC, ma sono invece contaminate, ora identificate come un derivato della linea cellulare KE-37. Questa rivelazione ha profonde implicazioni per la ricerca passata e per gli studi futuri, sottolineando la necessità di una rigorosa autenticazione delle linee cellulari per garantire l'accuratezza della sperimentazione.

KE-37, la vera origine delle cellule SKW-3, è una linea di cellule B ottenuta da un paziente affetto da leucemia linfoblastica acuta (LLA). Questo spostamento dell'origine da LLC ad ALL, dovuto alla contaminazione, altera drasticamente il contesto biologico e l'utilità della linea SKW-3. Per i ricercatori, ciò significa che qualsiasi risultato ottenuto è da escludere. Per i ricercatori, ciò significa che qualsiasi risultato o dato precedentemente attribuito a meccanismi specifici della LLC quando si utilizza SKW-3 deve essere valutato criticamente e potenzialmente rivisto. La riclassificazione in un derivato del KE-37 rende necessario uno spostamento dell'applicazione delle cellule SKW-3 verso studi più rilevanti per l'ALL e i suoi meccanismi di base, piuttosto che per la LLC.

Organism Umano

Tissue Ematopoietico

Disease Leucemia a cellule T (CLL)

Synonyms SKW3

Caratteristiche

Age 27 anni

Gender Uomo

Ethnicity Caucasico

Morphology Celle rotonde

Cell type Linfociti T

Growth properties Sospensione

Cellule SKW-3 | 300343

Dati normativi

Citation	SKW-3 (numero di catalogo Cytion 300343)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2197

Dati biomolecolari

Antigen expression	CD2+, CD3-, CD4+, CD8, antigene simile al Thy-1
Products	LECT2 (proteina chemiotattica)

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS inattivato termicamente
Doubling time	30 ore
Subculturing	Mantenere le colture aggiungendo o sostituendo periodicamente il terreno. Avviare le colture con una densità di 5×10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra 3×10^5 e 1×10^6 cellule/ml per una crescita ottimale.
Post-Thaw Recovery	1×10^5 /ml
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule SKW-3 | 300343

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule SKW-3 | 300343

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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