

SKW-3 ląstelės | 300343

Bendra informacija

Description

SKW-3 ląstelių linija, kuri, kaip manoma, iš pradžių buvo gauta iš 61 metų vyro, sergančio lėtine limfocitine leukemija (LKL), periferinio kraujo, yra svarbus vėžio tyrimų, ypač B ląstelių leukemijų tyrimų, objektas. Laikui bėgant, atlikus pakartotinį kritinį vertinimą, naudojant trumpųjų tandeminių pasikartojimų (STR) profiliavimą, paaiškėjo svarbi problema - SKW-3 ląstelės nėra gryna CLL paciento linija, o yra užkrėstos, dabar identifikuotos kaip KE-37 ląstelių linijos darinys. Šis atradimas turi didelę reikšmę ankstesniems tyrimams ir būsimiems tyrimams, pabrėžiant būtinybę griežtai nustatyti ląstelių linijos autentiškumą, kad būtų užtikrintas eksperimentinis tikslumas.

KE-37, tikroji SKW-3 ląstelių kilmė, yra B ląstelių linija, sukurta iš ūmine limfoblastine leukemija (ŪLL) sergančio paciento. Dėl užteršimo pasikeitusi kilmė iš CLL į ALL iš esmės keičia SKW-3 linijos biologinį kontekstą ir naudingumą. Mokslininkams tai reiškia, kad bet kokios išvados ar duomenys, anksčiau priskirti CLL būdingiems mechanizms, naudojant SKW-3 liniją, turi būti kritiškai įvertinti ir galbūt peržiūrėti. Perkvalifikavus SKW-3 ląsteles į KE-37 darinį, būtina keisti SKW-3 ląstelių panaudojimo būdą ir atlikti tyrimus, labiau susijusius su ALL ir jos pagrindiniais mechanizmais, o ne su CLL.

Organism

Žmogus

Tissue

Kraujodaros

Disease

T ląstelių leukemija (CLL)

Synonyms

SKW3

Charakteristikos

Age

27 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Apvalios ląstelės

Cell type

T limfocitas

Growth properties

Pakaba

Reguliavimo duomenys

SKW-3 ląstelės | 300343

Citation SKW-3 (Cytion katalogo numeris 300343)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2197

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression CD2+, CD3-, CD4+, CD8, į Thy-1 panašus antigenas

Products LECT2 (chemotaktinis baltymas)

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS

Doubling time 30 valandų

Subculturing Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su 5×10^5 ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo 3×10^5 iki 1×10^6 ląstelių/ml.

Post-Thaw Recovery 1×10^5 /ml

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

SKW-3 ląstelės | 300343

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

SKW-3 ląstelės | 300343

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

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 aleliai

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