

SKW-3-celler | 300343

Generell informasjon

Description

SKW-3-cellelinjen, som opprinnelig ble antatt å stamme fra perifert blod fra en 61 år gammel mann med diagnosen kronisk lymfatisk leukemi (KLL), representerer et viktig interessepunkt i kreftforskningen, særlig når det gjelder studier av B-celle-leukemier. Over tid har kritiske revurderinger ved hjelp av STR-profilering (Short Tandem Repeat) belyst et viktig problem - KW-3-cellene er ikke en ren linje fra KLL-pasienten, men er i stedet kontaminert, og er nå identifisert som et derivat av KE-37-cellelinjen. Denne avsløringen har store konsekvenser for tidligere forskning og fremtidige studier, og understreker behovet for streng autentisering av cellelinjer for å sikre eksperimentell nøyaktighet.

KE-37, som SKW-3-cellene egentlig stammer fra, er en B-cellelinje som ble etablert fra en pasient med akutt lymfoblastisk leukemi (ALL). Kontamineringen gjør at SKW-3-linjen skifter opprinnelse fra KLL til ALL, noe som drastisk endrer den biologiske konteksten og nytteverdien av SKW-3-linjen. For forskere betyr dette at alle funn eller data som tidligere har blitt tilskrevet KLL-spesifikke mekanismer ved bruk av SKW-3, må evalueres kritisk og eventuelt revideres. Omklassifiseringen til et derivat av KE-37 gjør det nødvendig å endre bruken av SKW-3-celler til studier som er mer relevante for ALL og de underliggende mekanismene, i stedet for KLL.

Organism

Menneskelig

Tissue

Hematopoietisk

Disease

T-celle leukemi (KLL)

Synonyms

SKW3

Kjennetegn

Age

27 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Cell type

T-lymfocytt

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

SKW-3-celler | 300343

Citation SKW-3 (Cytion-katalognummer 300343)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2197

Biomolekylære data

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

Products LECT2 (kjemotaktisk protein)

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS

Doubling time 30 timer

Subculturing Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.

Post-Thaw Recovery 1×10^5 /ml

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

SKW-3-celler | 300343

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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