

Bunky SKW-3 | 300343**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia SKW-3, o ktorej sa pôvodne predpokladalo, že pochádza z periférnej krvi 61-ročného muža s diagnózou chronickej lymfocytovej leukémie (CLL), predstavuje významný bod záujmu vo výskume rakoviny, najmä v štúdiu B-bunkových leukémií. Postupom času kritické prehodnotenia pomocou profilovania krátkych tandemových opakovaní (STR) objasnili dôležitý problém - bunky SKW-3 nie sú čistou líniou od pacienta s CLL, ale sú kontaminované, teraz identifikované ako derivát bunkovej línie KE-37. Toto odhalenie má hlboké dôsledky pre doterajší výskum a budúce štúdie a zdôrazňuje potrebu prísnej autentifikácie bunkových línií na zabezpečenie experimentálnej presnosti.

KE-37, skutočný pôvod buniek SKW-3, je línia B-buniek vytvorená u pacienta s akútnou lymfoblastickou leukémiou (ALL). Tento posun v pôvode z CLL na ALL v dôsledku kontaminácie drasticky mení biologický kontext a užitočnosť línie SKW-3. Pre výskumníkov to znamená, že všetky zistenia alebo údaje, ktoré sa predtým pripisovali mechanizmom špecifickým pre CLL, sa pri použití SKW-3 musia kriticky zhodnotiť a prípadne prehodnotiť. Preklasifikovanie na derivát KE-37 si vyžaduje posun v použití buniek SKW-3 smerom k štúdiám, ktoré sú relevantnejšie pre ALL a jej základné mechanizmy, a nie pre CLL.

Organism

Ľudské

Tissue

Hematopoetické

Disease

T-bunková leukémia (CLL)

Synonyms

SKW3

Charakteristika**Age**

27 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Okrúhle bunky

Cell type

T lymfocyt

Growth properties

Pozastavenie

Regulačné údaje

Bunky SKW-3 | 300343**Citation** SKW-3 (katalógové číslo Cytion 300343)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2197**Biomolekulárne údaje****Antigen expression** CD2+, CD3-, CD4+, CD8, antigén podobný Thy-1**Products** LECT2 (chemotaktický proteín)**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS**Doubling time** 30 hodín**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou 5×10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržiajte koncentráciu buniek v rozmedzí 3×10^5 až 1×10^6 buniek/ml.**Post-Thaw Recovery** 1×10^5 /ml**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky SKW-3 | 300343

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky SKW-3 | 300343

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

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

Alely 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