

KG-1a rakud | 300234

Üldine teave

Description

KG-1a rakuliin on alamliin, mis on saadud algsest KG-1 rakuliinist, mis loodi ägeda müeloidse leukeemiaga (AML) diagnoositud patsiendi luuüdist. KG-1a rakud liigitatakse inimese müeloidse leukeemia rakuliiniks ja neid iseloomustab eelkõige nende ebaküpsus ja diferentseerimata seisund. Erinevalt KG-1 vanemrakkudest, mis on peamiselt müeloblastide staadiumis, on KG-1a rakud primitiivsema fenotüübiga, mis sarnaneb varastele müeloidsetele progenitaatoritele või isegi tüvirakkudele. See muudab nad hindamatuks vahendiks hematopoesia, leukeemia progresseerumise ja müeloidse diferentseerumise aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimisel.

KG-1a rakud ekspresseerivad mitmeid varastele hematopoeetilistele eellastele iseloomulikke pinnamarkereid, nagu CD34, CD38 ja HLA-DR, kuid neil puuduvad küpsete müeloidsete rakkude markerid. See profiil muudab need rakud väga sobivaks tüvirakkude bioloogia uurimiseks ja leukeemiaravimite väljatöötamiseks. Lisaks kasutatakse KG-1a rakke sageli ravimite sõeluuringutes, et hinnata potentsiaalsete leukeemiasüstide ühendite tõhusust, eriti nende, mis on suunatud leukeemilistele tüvirakkudele. Nende võime säilitada diferentseerimata seisundit in vitro annab ka tugeva mudeli geeniekspressiooni uuringuteks ja leukeemia patogeneesiga seotud funktsionaalseteks katsetusteks.

Nagu teisedki inimkoest saadud rakuliinid, on KG-1a rakud mõeldud ainult teaduslikuks kasutamiseks ja ei sobi terapeutilisteks või in vivo rakendusteks. Nad vajavad hoolikat käitlemist steriilsetes tingimustes ja nende kasvutingimused nõuavad spetsiifilisi kasvatustingimusi, sealhulgas RPMI-1640 söötme kasutamist, millele on lisatud veisefetaalset seerumit. KG-1a rakuliini kasutavad teadlased saavad olulist teavet leukeemilise transformatsiooni varajaste etappide ja vereloome eellaste rolli kohta vähi bioloogias.

Organism	Inimene
Tissue	Luuüdi
Disease	Äge müelogeenne leukeemia
Synonyms	KG-1A, KG1A, KG1A, KG1a

Omadused

Age	59 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Cell type	Müeloblast
Growth properties	Peatamine

KG-1a rakud | 300234

Regulatiivsed andmed

Citation	KG-1a (Cytioni katalooginumber 300234)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1824

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	HLA A30, A31, B35, Cw4
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 0, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 0, GLO-1, 2
Viruses	EBNA (EBNA): negatiivne
Reverse transcriptase	Negatiivne

Töötlemine

Culture Medium	IMDM, w: 4,5 g/L glükoos, w: 4 mM L-glutamiin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820800a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Doubling time	45 tundi
Subculturing	Kanna rakususpensioon steriilsetesse tsentrifuugitorudesse. Koguge rakud, tsentrifuugides 300xg kiirusel 3 minutit. Viskake supernatant ära ja suspendeerige pelletitud rakud uues rakukultuurikeskkonnas. Reguleerige optimaalseks rakutiheduseks 1–3 x 10 ⁵ rakku/ml. Jagage rakud, kui maksimaalne rakutihedus 1–2 x 10 ⁶ rakku/ml on saavutatud.
Fluid renewal	Iga 3 päeva tagant
Post-Thaw Recovery	Laske rakkudel vähemalt 24 tundi külmutamisest taastuda.

KG-1a rakud | 300234

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KG-1a rakud | 300234

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.