

KGN клетки | 305446

Обща информация

Description

Клетъчната линия KGN е човешка клетъчна линия на яйчников гранулозен тумор, получена от пациентка с рак на яйчниците и имортилизирана за използване в различни научни изследвания. Тя запазва функционалните характеристики на гранулозните клетки, включително синтеза на хормони, което я прави ценен модел за изследване на функциите на гранулозните клетки, хормоналната регулация и патологията на яйчниците. Клетките KGN са използвани за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на репродуктивни и ендокринни нарушения като синдрома на поликистозните яйчници (PCOS). Те са особено известни с отговора си към полиненаситени мастни киселини като арахидонова киселина (АК), които могат да предизвикат оксидативен стрес (ОС) и да повлияят на митохондриалната функция.

Изследванията показват, че излагането на АА в клетките на KGN повишава нивата на оксидативни маркери като реактивни кислородни видове (ROS) и малондиалдехид (MDA), намалява общия антиоксидантен капацитет и влошава митохондриалната активност, което води до апоптоза на клетките. Този процес е свързан с повишаване на регулацията на фактора за диференциация на растежа 15 (GDF15), който изглежда изпълнява защитна роля срещу клетъчните увреждания, предизвикани от оксидативен стрес. Освен това KGN клетките са чувствителни към фероптоза - желязозависима форма на клетъчна смърт, характеризираща се с липидна пероксидация и оксидативен стрес. Проучванията подчертават, че поглъщането на желязо, опосредствано чрез рецептора за трансферин, може да насърчи производството на ROS и да допринесе за този път.

Освен това KGN клетките са използвани за изследване на въздействието на микроРНК върху клетъчната функция, тъй като miR-93-5p е идентифициран като фактор, стимулиращ апоптозата и фероптозата чрез сигналния път NF-κB, което свързва регулирането на miRNA с дисфункцията на гранулозните клетки при PCOS. Тези възможности превръщат KGN клетките в значим модел за подобряване на разбирането на патофизиологията на яйчниците и за проучване на потенциални терапевтични цели.

Organism Човек

Tissue Яйчник, яйчников фоликул, гранулозен клетъчен слой

Disease Гранулозно-клетъчен тумор на яйчниците

Характеристики

Age 63 години

Gender Жена

Ethnicity Японски

Morphology Подобни на фибробласти

KGN клетки | 305446

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation KGN (каталожен номер 305446 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0375

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), хетерозиготен

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

KGN клетки | 305446

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

KGN клетки | 305446

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.