

KGN Cells | 305446

Obecné informace

Description

Buněčná linie KGN je lidská ovariální granulózová nádorová buněčná linie odvozená od pacientky s rakovinou vaječníků a imortalizovaná pro použití v různých výzkumných studiích. Zachovává si funkční vlastnosti granulózových buněk, včetně syntézy hormonů, což z ní činí cenný model pro zkoumání funkcí granulózových buněk, hormonální regulace a patologie vaječníků. KGN buňky byly využity ke zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem reprodukčních a endokrinních poruch, jako je syndrom polycystických vaječníků (PCOS). Jsou zvláště známy svou reakcí na polynenasycené mastné kyseliny, jako je kyselina arachidonová (AA), která může vyvolat oxidační stres (OS) a ovlivnit funkci mitochondrií.

Výzkum ukázal, že expozice AA v buňkách KGN zvyšuje hladiny oxidačních markerů, jako jsou reaktivní formy kyslíku (ROS) a malondialdehyd (MDA), snižuje celkovou antioxidační kapacitu a narušuje mitochondriální aktivitu, což vede k apoptóze buněk. Tento proces je spojen se zvýšenou regulací růstového diferenciačního faktoru 15 (GDF15), který zřejmě plní ochrannou úlohu před poškozením buněk vyvolaným oxidačním stresem. Buňky KGN jsou navíc citlivé na ferroptózu, což je forma buněčné smrti závislá na železe, která se vyznačuje peroxidací lipidů a oxidačním stresem. Studie zdůrazňují, že příjem železa zprostředkovaný prostřednictvím transferinového receptoru může podporovat produkci ROS a přispívat k této cestě.

Kromě toho byly buňky KGN použity ke studiu vlivu mikroRNA na funkci buněk, protože miR-93-5p byla identifikována jako faktor podporující apoptózu a ferroptózu prostřednictvím signální dráhy NF- κ B, což spojuje regulaci miRNA s dysfunkcí granulózových buněk u PCOS. Díky těmto schopnostem jsou buňky KGN významným modelem pro lepší pochopení patofyziologie vaječníků a zkoumání potenciálních terapeutických cílů.

Organism

Člověk

Tissue

Vaječník, ovariální folikul, vrstva granulózových buněk

Disease

Nádor z granulózových buněk vaječníků

Charakteristika

Age

63 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Japonský

Morphology

Fibroblastům podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

KGN Cells | 305446

Citation KGN (katalogové číslo Cytion 305446)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0375

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: (c.402C>G), heterozygotní

Zpracování

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Fluid renewal** 2krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

KGN Cells | 305446**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

KGN Cells | 305446

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.