

KGN-Zellen | 305446

Allgemeine Informationen

Description

Die KGN-Zelllinie ist eine humane Granulosa-Tumorzelllinie, die von einer Patientin mit Eierstockkrebs stammt und zur Verwendung in verschiedenen Forschungsstudien immortalisiert wurde. Sie behält die funktionellen Eigenschaften von Granulosazellen bei, einschließlich der Hormonsynthese, was sie zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung von Granulosazellfunktionen, hormoneller Regulierung und Eierstockpathologie macht. KGN-Zellen wurden zur Untersuchung der molekularen Mechanismen verwendet, die reproduktiven und endokrinen Störungen wie dem polyzystischen Ovarialsyndrom (PCOS) zugrunde liegen. Sie sind besonders bekannt für ihre Reaktion auf mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Arachidonsäure (AA), die oxidativen Stress (OS) auslösen und die mitochondriale Funktion beeinträchtigen können.

Die Forschung hat gezeigt, dass die Exposition gegenüber AA in KGN-Zellen den Gehalt an oxidativen Markern wie reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Malondialdehyd (MDA) erhöht, die antioxidative Gesamtkapazität verringert und die mitochondriale Aktivität beeinträchtigt, was zur Apoptose der Zellen führt. Dieser Prozess geht mit einer Hochregulierung des Wachstumsdifferenzierungsfaktors 15 (GDF15) einher, der offenbar eine schützende Funktion gegen durch oxidativen Stress verursachte Zellschäden hat. Darüber hinaus sind KGN-Zellen anfällig für Ferroptose, eine eisenabhängige Form des Zelltods, die durch Lipidperoxidation und oxidativen Stress gekennzeichnet ist. Studien zeigen, dass die über den Transferrinrezeptor vermittelte Eisenaufnahme die ROS-Produktion fördern und zu diesem Weg beitragen kann.

Darüber hinaus wurden KGN-Zellen verwendet, um die Auswirkungen von microRNAs auf die Zellfunktion zu untersuchen, da miR-93-5p als ein Faktor identifiziert wurde, der Apoptose und Ferroptose über den NF- κ B-Signalweg fördert und die miRNA-Regulierung mit der Dysfunktion der Granulosazellen bei PCOS in Verbindung bringt. Diese Fähigkeiten machen KGN-Zellen zu einem wichtigen Modell, um das Verständnis der Pathophysiologie der Eierstöcke zu verbessern und potenzielle therapeutische Ziele zu erforschen.

Organism

Menschen

Tissue

Eierstock, Eierstockfollikel, Granulosazellschicht

Disease

Granulosazelltumor am Eierstock

Merkmale

Age

63 Jahre

Gender

Weiblich

Ethnicity

Japanisch

Morphology

Fibroblastenähnlich

Growth properties

Adhärent

KGN-Zellen | 305446

Regulatorische Daten

Citation KGN (Cytion-Katalognummer 305446)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0375

Biomolekulare Daten

Mutational profile Mutation: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), heterozygot

Handhabung

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Fluid renewal** 2 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

KGN-Zellen | 305446

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

KGN-Zellen | 305446

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.