

Κύτταρα KGN | 305446

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά KGN είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά όγκου granulosa των ωθηκών που προέρχεται από ασθενή με καρκίνο των ωθηκών και έχει αθανασιστεί για χρήση σε διάφορες ερευνητικές μελέτες. Διατηρεί τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των κυττάρων granulosa, συμπεριλαμβανομένης της ορμονικής σύνθεσης, καθιστώντας την πολύτιμο μοντέλο για την εξέταση των λειτουργιών των κυττάρων granulosa, της ορμονικής ρύθμισης και της παθολογίας των ωθηκών. Τα κύτταρα KGN έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τις αναπαραγωγικές και ενδοκρινικές διαταραχές, όπως το σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών (PCOS). Είναι ιδιαίτερα γνωστά για την απόκρισή τους σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το αραχιδονικό οξύ (AA), το οποίο μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες (OS) και να επηρεάσει τη μιτοχονδριακή λειτουργία.

Έρευνες έχουν δείξει ότι η έκθεση σε AA σε κύτταρα KGN αυξάνει τα επίπεδα οξειδωτικών δεικτών, όπως τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και η μηλονδιαλδεΐδη (MDA), μειώνει τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα και εξασθενεί τη μιτοχονδριακή δραστηριότητα, οδηγώντας σε απόπτωση των κυττάρων. Η διαδικασία αυτή σχετίζεται με την ανοδική ρύθμιση του παράγοντα αυξητικής διαφοροποίησης 15 (GDF15), ο οποίος φαίνεται να εξυπηρετεί προστατευτικό ρόλο έναντι της κυτταρικής βλάβης που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες. Επιπροσθέτως, τα κύτταρα KGN είναι ευαίσθητα στη σιδηροπρωσία, μια σιδηροεξαρτώμενη μορφή κυτταρικού θανάτου που χαρακτηρίζεται από υπεροξειδωση λιπιδίων και οξειδωτικό στρες. Μελέτες υπογραμμίζουν ότι η πρόσληψη σιδήρου με τη μεσολάβηση του υποδοχέα τρανσφερρίνης μπορεί να προάγει την παραγωγή ROS και να συμβάλλει σε αυτό το μονοπάτι.

Επιπλέον, τα κύτταρα KGN έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της επίδρασης των microRNAs στη λειτουργία των κυττάρων, καθώς ο miR-93-5p έχει αναγνωριστεί ως παράγοντας που προάγει την απόπτωση και τη σιδηροπρωσία μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού NF-κB, συνδέοντας τη ρύθμιση των miRNAs με τη δυσλειτουργία των κοκκιοκυττάρων στο PCOS. Αυτές οι δυνατότητες καθιστούν τα κύτταρα KGN ένα σημαντικό μοντέλο για την προώθηση της κατανόησης της παθοφυσιολογίας των ωθηκών και τη διερεύνηση πιθανών θεραπευτικών στόχων.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Ωθήκη, ωθηκικό ωθυλάκιο, στρώμα κυττάρων granulosa

Disease

Όγκος των κοκκιοκυττάρων των ωθηκών

Χαρακτηριστικά

Age

63 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Ιαπωνικά

Morphology

Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

Κύτταρα KGN | 305446

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation KGN (αριθμός καταλόγου Cytion 305446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0375

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile Μετάλλαξη: (c.402C>G), ετερόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα KGN | 305446

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλικό αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλικό με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα KGN | 305446

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.