

KGN rakud | 305446

Üldine teave

Description

KGN rakuliin on inimese munasarjade granulosa tuumori rakuliin, mis on saadud munasarjavähiga patsiendilt ja immortaliseeritud kasutamiseks erinevates teadusuuringutes. See säilitab granuloosarakkude funktsionaalsed omadused, sealhulgas hormoonsünteesi, mistõttu on see väärtuslik mudel granuloosarakkude funktsioonide, hormonaalse regulatsiooni ja munasarjade patoloogia uurimiseks. KGN rakke on kasutatud reproduktiivsete ja endokriinsete häirete, näiteks polütsüstiliste munasarjade sündroomi (PCOS) aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Nad on eriti tuntud oma reaktsiooni poolest polüküllastumata rasvhapetele, nagu arahhidoonhape (AA), mis võib esile kutsuda oksüdatiivset stressi (OS) ja mõjutada mitokondriide funktsiooni.

Uuringud on näidanud, et kokkupuude AA-ga KGN-rakkudes tõstab oksüdatiivsete markerite, nagu reaktiivsed hapnikuliigid (ROS) ja malondialdehüüd (MDA), taset, vähendab kogu antioksidantide mahtu ja kahjustab mitokondriide aktiivsust, mis viib raku apoptoosini. See protsess on seotud kasvu diferentseerimisfaktori 15 (GDF15) ülereguleerimisega, millel näib olevat kaitsev roll oksüdatiivse stressi põhjustatud rakukahjustuste vastu. Lisaks on KGN rakud tundlikud ferroptoosi suhtes, mis on rauast sõltuv rakusurma vorm, mida iseloomustab lipiidide peroksüdatsioon ja oksüdatiivne stress. Uuringud rõhutavad, et transferrini retseptori kaudu vahendatud raua omastamine võib soodustada ROSi tootmist ja aidata kaasa sellele rajale.

Lisaks on KGN rakke kasutatud mikroRNAde mõju uurimiseks rakkude funktsioonile, kuna miR-93-5p on tuvastatud kui apoptoosi ja ferroptoosi edendav tegur NF-κB signaalitee kaudu, mis seob miRNA regulatsiooni granuloosarakkude düsfunktsiooniga PCOSi puhul. Need võimalused muudavad KGN-rakud oluliseks mudeliks munasarjade patofüsioloogia mõistmise edendamiseks ja võimalike terapeutiliste sihtmärkide uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Munasarjad, munasarjade folliikul, granulosa rakkude kiht

Disease Munasarjade granuloosarakkude kasvaja

Omadused

Age 63 aastat

Gender Naised

Ethnicity Jaapani

Morphology Fibroblastilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

KGN rakud | 305446

Citation KGN (Cytioni katalooginumber 305446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0375

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: Cys134Trp (c.402C>G), heterosügootne

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 korda nädalas

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.

KGN rakud | 305446**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

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

KGN rakud | 305446

**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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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