

KGN-kennot | 305446

Yleisiä tietoja

Description

KGN-solulinja on ihmisen munasarjojen granulosa-kasvainsolulinja, joka on peräisin munasarjasyöpäpotilaalta ja joka on immortalisoitu käytettäväksi erilaisissa tutkimuksissa. Se säilyttää granuloosasolujen toiminnalliset ominaisuudet, mukaan lukien hormonisynteesi, mikä tekee siitä arvokkaan mallin granuloosasolujen toimintojen, hormonaalisen säätelyn ja munasarjojen patologian tutkimiseen. KGN-soluja on käytetty lisääntymis- ja hormonitoiminnan häiriöiden, kuten munasarjojen polykystisen oireyhtymän (PCOS), taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen. Ne tunnetaan erityisesti niiden reagoinnista monitydyttymättömiin rasvahappoihin, kuten arakidonihappoon (AA), joka voi aiheuttaa oksidatiivista stressiä (OS) ja vaikuttaa mitokondrioiden toimintaan.

Tutkimukset ovat osoittaneet, että altistuminen AA:lle KGN-soluissa nostaa oksidatiivisten merkkiaineiden, kuten reaktiivisten happilajien (ROS) ja malondialdehydin (MDA) tasoja, vähentää kokonaisantioksidanttikapasiteettia ja heikentää mitokondrioiden toimintaa, mikä johtaa solujen apoptoosiin. Tähän prosessiin liittyy kasvun erilaistumistekijä 15:n (GDF15) ylössäätely, jolla näyttää olevan suojaava rooli oksidatiivisen stressin aiheuttamia soluvaurioita vastaan. Lisäksi KGN-solut ovat herkkiä ferroptoosille, joka on raudasta riippuvainen solukuoleman muoto, jolle on ominaista lipidiperoksidaatio ja oksidatiivinen stressi. Tutkimukset korostavat, että transferriinireseptorin kautta välittyvä raudan saanti voi edistää ROS-tuotantoa ja vaikuttaa tähän reittiin.

Lisäksi KGN-soluja on käytetty tutkimaan mikroRNA:iden vaikutusta solujen toimintaan, sillä miR-93-5p on tunnistettu tekijäksi, joka edistää apoptoosia ja ferroptoosia NF-κB-signaalintireitin kautta, mikä yhdistää miRNA-säätelyn granuloosasolujen toimintahäiriöön PCOS:ssä. Nämä ominaisuudet tekevät KGN-soluista merkittävän mallin munasarjojen patofysiologian ymmärtämisen edistämiseksi ja mahdollisten terapeuttisten kohteiden tutkimiseksi.

Organism

Ihminen

Tissue

Munasarja, munasarjatiehyt, granuloosasolukerros

Disease

Munasarjojen granuloosasolukasvain

Ominaisuudet

Age

63 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Japanilainen

Morphology

Fibroblastien kaltaiset

Growth properties

Tarttuva

KGN-kennot | 305446

Säätelytiedot

Citation	KGN (Cytionin luettelonumero 305446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0375

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile	Mutaatio: Cys134Trp (c.402C>G), heterotsygoottinen
--------------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

KGN-kennot | 305446

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KGN-kennot | 305446

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.