

KGN sejtek | 305446

Általános információk

Description

A KGN sejtvonal egy emberi petefészek granulosa tumor sejtvonal, amely egy petefészekrákos betegből származik, és amelyet különböző kutatási tanulmányokban való felhasználás céljából immortalizáltak. Fenntartja a granulózasejtek funkcionális jellemzőit, beleértve a hormonszintézist is, így értékes modell a granulózasejtek funkcióinak, a hormonális szabályozásnak és a petefészek patológiájának vizsgálatára. A KGN sejteket a reproduktív és endokrin rendellenességek, például a policisztás ovárium szindróma (PCOS) hátterében álló molekuláris mechanizmusok vizsgálatára használták. Különösen a többszörösen telítetlen zsírsavakra, például az arachidonsavra (AA) adott válaszukról ismertek, amelyek oxidatív stresszt (OS) indukálhatnak és hatással lehetnek a mitokondriumok működésére.

Kutatások kimutatták, hogy az AA-nak való kitettség a KGN sejtekben megemeli az oxidatív markerek, például a reaktív oxigénfajok (ROS) és a malondialdehid (MDA) szintjét, csökkenti a teljes antioxidáns kapacitást, és károsítja a mitokondriális aktivitást, ami a sejtek apoptózisához vezet. Ez a folyamat a növekedési differenciálódási faktor 15 (GDF15) felszabályozásával jár együtt, amely a jelek szerint védő szerepet tölt be az oxidatív stressz által kiváltott sejtkárosodással szemben. A KGN sejtek emellett érzékenyek a ferroptózisra, a sejthalál vasfüggő formájára, amelyet lipidperoxidáció és oxidatív stressz jellemez. A vizsgálatok rávilágítanak arra, hogy a transferrinreceptoron keresztül közvetített vasfelvétel elősegítheti a ROS-termelést és hozzájárulhat ehhez az útvonalhoz.

Továbbá a KGN sejteket használták a mikroRNS-ek sejtműködésre gyakorolt hatásának tanulmányozására, mivel a miR-93-5p-t az NF-κB jelátviteli útvonalon keresztül az apoptózist és a ferroptózist elősegítő tényezőként azonosították, ami összekapcsolja a miRNS-szabályozást a granulózasejtek PCOS-ben jelentkező diszfunkciójával. Ezek a képességek a KGN sejteket jelentős modellé teszik a petefészek patofiziológiájának jobb megértéséhez és a potenciális terápiás célpontok feltárásához.

Organism

Emberi

Tissue

Petefészek, petefészek tüsző, granulosa sejtréteg

Disease

Petefészek granulózasejtes tumor

Jellemzők

Age

63 év

Gender

Női

Ethnicity

Japán

Morphology

Fibroblaszt-szerű

Growth properties

Adherent

KGN sejtek | 305446

Szabályozási adatok

Citation	KGN (Cytion katalógusszám: 305446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0375

Biomolekuláris adatok

Mutational profile	Mutáció: Cys134Trp (c.402C>G), heterozigóta
--------------------	---

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

KGN sejtek | 305446

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

KGN sejtek | 305446

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.