

KGN ląstelės | 305446

Bendra informacija

Description

KGN ląstelių linija yra žmogaus kiaušidžių granuliozės naviko ląstelių linija, gauta iš kiaušidžių vėžiu sergančios pacientės ir imortalizuota naudoti įvairiuose moksliniuose tyrimuose. Ji išlaiko funkcines granuliozės ląstelių savybes, įskaitant hormonų sintezę, todėl yra vertingas modelis granuliozės ląstelių funkcijoms, hormonų reguliacijai ir kiaušidžių patologijai tirti. KGN ląstelės buvo panaudotos tiriant reprodukcinių ir endokrinių sutrikimų, tokių kaip policistinių kiaušidžių sindromas (PCOS), molekulinis mechanizmus. Jos ypač pasižymi reakcija į polinesočiąsias riebalų rūgštis, tokias kaip arachidono rūgštis (AA), kurios gali sukelti oksidacinį stresą (OS) ir paveikti mitochondrijų funkciją.

Tyrimai parodė, kad dėl AA poveikio KGN ląstelėse padidėja oksidacinių žymenų, tokių kaip reaktyviosios deguonies rūšys (ROS) ir malondialdehidas (MDA), kiekis, sumažėja bendras antioksidacinis pajėgumas ir sutrinka mitochondrijų veikla, dėl to vyksta ląstelių apoptozė. Šis procesas susijęs su augimo diferenciacijos faktoriaus 15 (GDF15), kuris, atrodo, atlieka apsauginį vaidmenį nuo oksidacinio streso sukeltos ląstelių žalos, reguliacija. Be to, KGN ląstelės yra jautrios ferroptozei - nuo geležies priklausomai ląstelių mirties formai, kuriai būdinga lipidų peroksidacija ir oksidacinis stresas. Tyrimai rodo, kad geležies pasisavinimas, kuriam tarpininkauja transferino receptorius, gali skatinti ROS gamybą ir prisidėti prie šio kelio.

Be to, KGN ląstelės buvo panaudotos tiriant mikro RNR poveikį ląstelių funkcijoms, nes miR-93-5p buvo nustatyta kaip veiksnys, skatinantis apoptozę ir ferroptozę per NF-κB signalinį kelią, susiejant miR RNR reguliavimą su granuliozės ląstelių disfunkcija sergant PCOS. Dėl šių savybių KGN ląstelės yra svarbus modelis, padedantis geriau suprasti kiaušidžių patofiziologiją ir ištirti galimus terapinius taikinius.

Organism Žmogus

Tissue Kiaušidė, kiaušidės folikulas, granuliozės ląstelių sluoksnis

Disease Kiaušidžių granuliozės ląstelių navikas

Charakteristikos

Age 63 metai

Gender Moteris

Ethnicity Japonų

Morphology Į fibroblastus panašus

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

KGN ląstelės | 305446

Citation KGN (Cytion katalogo numeris 305446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0375

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile Mutacija: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), heterozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

KGN ląstelės | 305446

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

KGN ląstelės | 305446

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.