

KGN šūnas | 305446

Vispārīga informācija

Description

KGN šūnu līnija ir cilvēka olnīcu granulozes audzēja šūnu līnija, kas iegūta no pacientes ar olnīcu vēzi un imortalizēta izmantošanai dažādos pētījumos. Tā saglabā granulozas šūnu funkcionālās īpašības, tostarp hormonu sintēzi, padarot to par vērtīgu modeli granulozas šūnu funkciju, hormonālās regulācijas un olnīcu patoloģijas izpētei. KGN šūnas ir izmantotas, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir reproduktīvo un endokrīno traucējumu, piemēram, policistisko olnīcu sindroma (PCOS), pamatā. Tās īpaši izceļas ar savu reakciju uz polinepiesātinātajām taukskābēm, piemēram, arahidonskābi (AA), kas var izraisīt oksidatīvo stresu (OS) un ietekmēt mitohondriju funkciju.

Pētījumi liecina, ka AA iedarbība KGN šūnās paaugstina oksidatīvo marķieru, piemēram, reaktīvo skābekļa sugu (ROS) un malondialdehīda (MDA), līmeni, samazina kopējo antioksidantu kapacitāti un pasliktina mitohondriālo aktivitāti, izraisot šūnu apoptozi. Šis process ir saistīts ar augšanas diferenciācijas faktora 15 (GDF15), kam, šķiet, ir aizsargfunkcija pret oksidatīvā stresa izraisītiem šūnu bojājumiem. Turklāt KGN šūnas ir jutīgas pret ferroptozi - no dzelzs atkarīgu šūnu nāves formu, ko raksturo lipīdu peroksidācija un oksidatīvais stress. Pētījumos uzsvērts, ka dzelzs uzņemšana ar transferīna receptora starpniecību var veicināt ROS veidošanos un sekmēt šo ceļu.

Turklāt KGN šūnas ir izmantotas, lai pētītu mikro RNS ietekmi uz šūnu funkcijām, jo miR-93-5p ir identificēts kā faktors, kas veicina apoptozi un ferroptozi, izmantojot NF-κB signalizācijas ceļu, kas saista miRNS regulāciju ar granulozas šūnu disfunkciju PCOS gadījumā. Šīs iespējas padara KGN šūnas par nozīmīgu modeli, lai uzlabotu izpratni par olnīcu patofizioloģiju un izpētītu potenciālos terapeitiskos mērķus.

Organism

Cilvēks

Tissue

Olnīcas, olnīcu folikuls, granulozas šūnu slānis

Disease

Olnīcu granulozas šūnu audzējs

Raksturojums

Age

63 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Japāņu

Morphology

Fibroblastiem līdzīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

KGN šūnas | 305446

Citation KGN (Cytion kataloga numurs 305446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0375

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), heterozigotiska

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 2 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

KGN šūnas | 305446

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KGN šūnas | 305446

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.