

KGN Cellen | 305446

Algemene informatie

Description

De KGN cellijn is een menselijke eierstok granulosa tumor cellijn afkomstig van een patiënt met eierstokkanker en geïmmortaliseerd voor gebruik in verschillende onderzoeken. Het behoudt de functionele kenmerken van granulosa cellen, waaronder hormoon synthese, waardoor het een waardevol model is voor het onderzoeken van granulosa cellfuncties, hormonale regulatie en ovariële pathologie. KGN-cellen zijn gebruikt om de moleculaire mechanismen te onderzoeken die ten grondslag liggen aan reproductieve en endocriene aandoeningen zoals het polycysteus ovarium syndroom (PCOS). Ze staan vooral bekend om hun reactie op meervoudig onverzadigde vetzuren zoals arachidonzuur (AA), die oxidatieve stress (OS) kunnen induceren en de mitochondriale functie kunnen beïnvloeden.

Onderzoek heeft aangetoond dat blootstelling aan AA in KGN-cellen de niveaus van oxidatieve markers zoals reactieve zuurstofsoorten (ROS) en malondialdehyde (MDA) verhoogt, de totale antioxidantcapaciteit verlaagt en de mitochondriale activiteit aantast, wat leidt tot celapoptose. Dit proces gaat gepaard met de upregulatie van groeïdifferentiatiefactor 15 (GDF15), die een beschermende rol lijkt te spelen tegen cellulaire schade veroorzaakt door oxidatieve stress. Daarnaast zijn KGN-cellen gevoelig voor ferroptose, een ijzerafhankelijke vorm van celdood die wordt gekenmerkt door lipide peroxidatie en oxidatieve stress. Studies benadrukken dat ijzeropname gemedieerd door de transferrinereceptor de productie van ROS kan bevorderen en kan bijdragen aan deze pathway.

Bovendien zijn KGN-cellen gebruikt om de invloed van microRNA's op de celfunctie te bestuderen, aangezien miR-93-5p is geïdentificeerd als een factor die apoptose en ferroptose bevordert via de NF-κB-signaleringsroute, waardoor miRNA-regulatie in verband wordt gebracht met het disfunctioneren van granulosa cellen bij PCOS. Deze mogelijkheden maken KGN-cellen tot een belangrijk model voor een beter begrip van de pathofysiologie van de eierstokken en voor het verkennen van mogelijke therapeutische doelwitten.

Organism

Mens

Tissue

Eierstok, eierstokfollikel, granulosa cellaag

Disease

Ovariële granulosa celtumor

Kenmerken

Age

63 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Japans

Morphology

Fibroblast-achtige

Growth properties

Aanhangend

KGN Cellen | 305446

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), heterozygoot
---------------------------	--

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Fluid renewal	2 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

KGN Cellen | 305446

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

KGN Cellen | 305446

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.