

KGN Celler | 305446

Generell informasjon

Description

KGN-cellelinjen er en human granulosaacellelinje fra en pasient med eggstokkreft som er udødeliggjort for bruk i ulike forskningsstudier. Den opprettholder granulosaacellenes funksjonelle egenskaper, inkludert hormonsyntese, noe som gjør den til en verdifull modell for å undersøke granulosaacellefunksjoner, hormonell regulering og ovariepatologi. KGN-celler har blitt brukt til å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for reproduktive og endokrine lidelser som polycystisk ovariesyndrom (PCOS). De er spesielt kjent for sin respons på flerumettede fettsyrer som arakidonsyre (AA), som kan indusere oksidativt stress (OS) og påvirke mitokondrienes funksjon.

Forskning har vist at eksponering for AA i KGN-celler øker nivåene av oksidative markører som reaktive oksygenforbindelser (ROS) og malondialdehyd (MDA), reduserer den totale antioksidantkapasiteten og svekker mitokondriell aktivitet, noe som fører til celleapoptose. Denne prosessen er forbundet med en oppregulering av vekstdifferensieringsfaktor 15 (GDF15), som ser ut til å ha en beskyttende rolle mot celledødsårsaker forårsaket av oksidativt stress. I tillegg er KGN-celler følsomme for ferroptose, en jernavhengig form for celledød som kjennetegnes av lipidperoksidasjon og oksidativt stress. Studier viser at jernopptak formidlet gjennom transferrinreseptoren kan fremme ROS-produksjon og bidra til denne prosessen.

Videre har KGN-celler blitt brukt til å studere mikroRNAs innvirkning på celledfunksjonen, ettersom miR-93-5p har blitt identifisert som en faktor som fremmer apoptose og ferroptose gjennom NF- κ B-signalveien, noe som knytter miRNA-regulering til dysfunksjon i granulosaaceller ved PCOS. Disse egenskapene gjør KGN-celler til en viktig modell for å øke forståelsen av ovariepatofysiologi og utforske potensielle terapeutiske mål.

Organism

Menneskelig

Tissue

Eggstokk, eggstokkfollikkel, granulosaacellelag

Disease

Granulosaacelletumor i eggstokkene

Kjennetegn

Age

63 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Japansk

Morphology

Fibroblastlignende

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

KGN Celler | 305446

Citation KGN (Cytion-katalognummer 305446)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0375

Biomolekylære data

Mutational profile Mutasjon: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), heterozygot

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Fluid renewal 2 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

KGN Celler | 305446**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

KGN Celler | 305446

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.