

Komórki KGN | 305446

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa KGN to ludzka linia komórek guza ziarnistego jajnika pochodząca od pacjentki z rakiem jajnika i unieśmiertelniona do użytku w różnych badaniach naukowych. Zachowuje cechy funkcjonalne komórek ziarnistych, w tym syntezę hormonów, co czyni ją cennym modelem do badania funkcji komórek ziarnistych, regulacji hormonalnej i patologii jajników. Komórki KGN zostały wykorzystane do zbadania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw zaburzeń rozrodczych i hormonalnych, takich jak zespół policystycznych jajników (PCOS). Są one szczególnie znane ze swojej reakcji na wielonienasycone kwasy tłuszczowe, takie jak kwas arachidonowy (AA), które mogą indukować stres oksydacyjny (OS) i wpływać na funkcje mitochondriów.

Badania wykazały, że ekspozycja na AA w komórkach KGN podnosi poziom markerów oksydacyjnych, takich jak reaktywne formy tlenu (ROS) i dialdehyd malonowy (MDA), zmniejsza całkowitą zdolność antyoksydacyjną i upośledza aktywność mitochondriów, prowadząc do apoptozy komórek. Proces ten jest związany z regulacją w górę czynnika różnicowania wzrostu 15 (GDF15), który wydaje się pełnić rolę ochronną przed uszkodzeniami komórkowymi wywołanymi stresem oksydacyjnym. Dodatkowo, komórki KGN są wrażliwe na ferroptozę, zależną od żelaza formę śmierci komórkowej charakteryzującą się peroksydacją lipidów i stresem oksydacyjnym. Badania podkreślają, że wychwyt żelaza za pośrednictwem receptora transferyny może promować produkcję ROS i przyczyniać się do tego szlaku.

Ponadto komórki KGN zostały wykorzystane do badania wpływu mikroRNA na funkcjonowanie komórek, ponieważ miR-93-5p został zidentyfikowany jako czynnik promujący apoptozę i ferroptozę poprzez szlak sygnałowy NF-κB, łącząc regulację miRNA z dysfunkcją komórek ziarnistych w PCOS. Te możliwości sprawiają, że komórki KGN są ważnym modelem dla lepszego zrozumienia patofizjologii jajników i badania potencjalnych celów terapeutycznych.

Organism Człowiek

Tissue Jajnik, pęcherzyk jajnikowy, warstwa komórek ziarnistych

Disease Guz komórek ziarnistych jajnika

Charakterystyka

Age 63 lata

Gender Kobieta

Ethnicity Japoński

Morphology Podobny do fibroblastów

Growth properties Adherent

Komórki KGN | 305446

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Fluid renewal	2 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki KGN | 305446

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.