

Células KGN | 305446

Informações gerais

Description

A linha de células KGN é uma linha de células tumorais da granulosa do ovário humano derivada de uma doente com cancro do ovário e imortalizada para utilização em vários estudos de investigação. Mantém as características funcionais das células da granulosa, incluindo a síntese hormonal, o que a torna um modelo valioso para examinar as funções das células da granulosa, a regulação hormonal e a patologia do ovário. As células KGN têm sido utilizadas para investigar os mecanismos moleculares subjacentes a doenças reprodutivas e endócrinas, como a síndrome dos ovários poliquísticos (SOP). São particularmente conhecidas pela sua resposta aos ácidos gordos poli-insaturados, como o ácido araquidónico (AA), que podem induzir o stress oxidativo (SO) e afetar a função mitocondrial.

A investigação demonstrou que a exposição ao AA nas células KGN eleva os níveis de marcadores oxidativos, como as espécies reactivas de oxigénio (ROS) e o malondialdeído (MDA), reduz a capacidade antioxidante total e prejudica a atividade mitocondrial, conduzindo à apoptose celular. Este processo está associado à regulação positiva do fator de diferenciação do crescimento 15 (GDF15), que parece desempenhar um papel protetor contra os danos celulares induzidos pelo stress oxidativo. Além disso, as células KGN são sensíveis à ferroptose, uma forma de morte celular dependente do ferro, caracterizada pela peroxidação lipídica e pelo stress oxidativo. Estudos salientam que a captação de ferro mediada pelo recetor da transferrina pode promover a produção de ROS e contribuir para esta via.

Além disso, as células KGN têm sido utilizadas para estudar o impacto dos microRNAs na função celular, uma vez que o miR-93-5p foi identificado como um fator que promove a apoptose e a ferroptose através da via de sinalização NF-κB, ligando a regulação do miRNA à disfunção das células da granulosa na SOP. Estas capacidades fazem das células KGN um modelo importante para a compreensão da fisiopatologia do ovário e para a exploração de potenciais alvos terapêuticos.

Organism

Humano

Tissue

Ovário, folículo ovariano, camada de células da granulosa

Disease

Tumor das células da granulosa do ovário

Caraterísticas

Age

63 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Japonês

Morphology

Tipo fibroblastos

Growth properties

Aderente

Células KGN | 305446

Dados regulamentares

Citation	KGN (número de catálogo Cytion 305446)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0375

Dados biomoleculares

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

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Fluid renewal	2 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células KGN | 305446

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.