

KGN Hücreleri | 305446

Genel bilgi

Description

KGN hücre hattı, yumurtalık kanserli bir hastadan türetilen ve çeşitli araştırma çalışmalarında kullanılmak üzere ölümsüzleştirilen bir insan yumurtalık granüloza tümör hücre hattıdır. Hormon sentezi de dahil olmak üzere granüloza hücrelerinin işlevsel özelliklerini korur ve granüloza hücresi işlevlerini, hormonal düzenlemeyi ve yumurtalık patolojisini incelemek için değerli bir model haline getirir. KGN hücreleri, polikistik over sendromu (PCOS) gibi üreme ve endokrin bozukluklarının altında yatan moleküler mekanizmaları araştırmak için kullanılmıştır. Özellikle oksidatif stresi (OS) indükleyebilen ve mitokondriyal fonksiyonu etkileyebilen araşidonik asit (AA) gibi çoklu doymamış yağ asitlerine verdikleri yanıtla dikkat çekmektedirler.

Araştırmalar, KGN hücrelerinde AA'ya maruz kalmanın reaktif oksijen türleri (ROS) ve malondialdehit (MDA) gibi oksidatif belirteçlerin seviyelerini yükselttiğini, toplam antioksidan kapasiteyi azalttığını ve mitokondriyal aktiviteyi bozarak hücre apoptozuna yol açtığını göstermiştir. Bu süreç, oksidatif stresin neden olduğu hücre hasara karşı koruyucu bir rol oynadığı görülen büyüme farklılaşma faktörü 15'in (GDF15) yukarı regülasyonu ile ilişkilidir. Ek olarak, KGN hücreleri, lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres ile karakterize edilen demire bağlı bir hücre ölümü şekli olan ferroptozu duyarlıdır. Çalışmalar, transferrin reseptörünün aracılık ettiği demir alımının ROS üretimini teşvik edebileceğini ve bu yola katkıda bulunabileceğini vurgulamaktadır.

Ayrıca, miR-93-5p, NF-κB sinyal yolu aracılığıyla apoptoz ve ferroptozu teşvik eden bir faktör olarak tanımlandığından, KGN hücreleri mikroRNA'ların hücre işlevi üzerindeki etkisini incelemek için kullanılmıştır ve miRNA düzenlemesini PCOS'taki granüloza hücresi işlev bozukluğuna bağlamaktadır. Bu özellikler, KGN hücrelerini yumurtalık patofizyolojisinin anlaşılmasını ilerletmek ve potansiyel terapötik hedefleri keşfetmek için önemli bir model haline getirmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Yumurtalık, yumurtalık folikülü, granüloza hücre tabakası

Disease

Yumurtalık granüloza hücre tümörü

Özellikler

Age

63 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Japonca

Morphology

Fibroblast benzeri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

KGN Hücreleri | 305446

Citation KGN (Cytion katalog numarası 305446)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0375

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile Mutasyon: FOXL2, p.Cys134Trp (c.402C>G), heterozigot

Elleçleme

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

KGN Hücreleri | 305446

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

KGN Hücreleri | 305446

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.