

buňky 12Z | 305733

Obecné informace

Description

Buněčná linie 12Z je imortalizovaný model lidských endometriotických epiteliálních buněk odvozených z peritoneálních endometriotických lézí. Původně vznikla transfekcí primárních endometriotických epiteliálních buněk antigenem SV40 large T, což umožnilo rozšířit proliferační kapacitu. Buňky 12Z jsou cytokeratin-pozitivní a E-cadherin-negativní, což je odlišuje jako epiteliální populaci s invazivním fenotypem. Bylo prokázáno, že tyto buňky vykazují in vitro vysoké migrační a invazivní chování, podobné buňkám metastazujícího karcinomu, a exprimují N-kadherin, kadherin spojený se zvýšenou invazivitou a pohyblivostí. Tento molekulární profil podporuje jejich použití při studiu invazivních mechanismů relevantních pro endometriózu a paralel pozorovaných v biologii rakoviny.

Z funkčního hlediska exprimují buňky 12Z geny zapojené do signalizace estrogenů a progesteronu, remodelace extracelulární matrix, angiogeneze, produkce cytokinů a biosyntézy a signalizace prostaglandinu E2 (PGE2). Vykazují zvýšenou aktivitu matrixových metaloproteináz MMP-2 a MMP-9, které jsou rozhodující pro degradaci složek extracelulární matrix a usnadňují invazi do tkání. Buňky 12Z navíc produkují vysoké hladiny PGE2, zánětlivého mediátoru, který se podílí na patofyziologii endometriózy. Tyto vlastnosti spolu s jejich reaktivitou na steroidní hormony činí z buněk 12Z účinný in vitro model pro zkoumání molekulárních základů vzniku endometriotických lézí, invaze a hormonální regulace.

Důležité je, že nedávné studie kontroly kvality potvrdily genetickou pravost buněk 12Z pomocí profilování STR (krátké tandemové repetice), což zmírnilo předchozí obavy z křížové kontaminace a chybné identifikace ve výzkumu endometriózy. Tyto buňky spolu s blízce příbuznou linií Z11 byly navrženy jako standardní modely pro zlepšení reprodukovatelnosti a spolehlivosti v oblasti reprodukční biologie a výzkumu endometriózy.

Organism

Člověk

Tissue

Endometrium, epitel

Disease

Endometrióza

Synonyms

12z, 12-Z, Z12, Z-12, Z12 Eo, EEC12Z

Charakteristika

Age

37 let

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Epitelová buňka

Growth properties

Adherentní

buňky 12Z | 305733

Regulační údaje

Citation	12Z (katalogové číslo Cytion 305733)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0Q73
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje konstrukt pro expresi velkého antigenu SV40 T, který je dodáván prostřednictvím vektoru pcDNA3.1 a umožňuje rozšířenou proliferaci prostřednictvím inaktivace p53 a Rb. Vložka je integrována do lidské endometriotické buněčné linie 12Z. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Mutational profile	
--------------------	--

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Doubling time	31 hodin
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ buněk/cm ²
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

buňky 12Z | 305733

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

buňky 12Z | 305733

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.