

**12Z rakud | 305733****Üldine teave****Description**

12Z rakuliin on immortaliseeritud inimese endometriootilise epiteeli rakumudel, mis on saadud peritoneaalsetest endometriootilistest kahjustustest. See loodi algselt primaarsete endometriootiliste epiteelirakkude transfekteerimisel SV40 suure T antigeeniga, mis võimaldab laiendatud proliferatiivset võimekust. 12Z rakud on tsütokeratiini-positiivsed ja E-kadheriin-negatiivsed, mis eristab neid kui epiteelilaadset populatsiooni, millel on invasiivne fenotüüp. On näidatud, et need rakud on in vitro väga migreeruvad ja invasiivsed, sarnaselt metastaatiliste karsinoomirakkudega, ning ekspresseerivad N-kadheriini, mis on seotud suurenenud invasiivsuse ja liikuvusega. See molekulaarne profiil toetab nende kasutamist endometriosisiga seotud invasioonimehhanismide uurimisel ja nende paralleele, mida on täheldatud vähibioloogias.

Funktsionaalselt ekspresseerivad 12Z rakud geene, mis on seotud östrogeeni ja progesterooni signaalimisega, rakuvälise maatriksi ümberkujundamisega, angiogeneesiga, tsütokiinide tootmisega ning prostaglandiin E2 (PGE2) biosünteesi ja signaalimisega. Neil on suurenenud maatriksi metalloproteiinide MMP-2 ja MMP-9 aktiivsus, mis on olulised rakuvälise maatriksi komponentide lagundamisel ja koe sissetungi hõlbustamisel. Lisaks toodavad 12Z rakud suurel määral PGE2, mis on põletikuvahendaja, mida seostatakse endometriosisi patofüsioloogiaga. Need omadused koos nende tundlikkusega steroidhormoonidele muudavad 12Z rakud tõhusaks in vitro mudeliks endometriootilise kahjustuse tekke, invasiivsuse ja hormonaalse regulatsiooni molekulaarsete aluste uurimiseks.

Oluline on see, et hiljutised kvaliteedikontrolli uuringud on kinnitanud 12Z rakkude geneetilist autentsust STR (lühike tandemkordus) profiilide koostamise abil, mis leevendab endometriosisi uuringutes varasemat muret ristsaastumise ja valesti identifitseerimise pärast. Need rakud ja nendega lähedalt seotud Z11 liin on pakutud standardmudeliteks reproduktsioonibioloogia ja endometriosisi uuringute reprodutseeritavuse ja usaldusväärsuse parandamiseks.

**Organism** Inimene**Tissue** Endomeetrium, epiteel**Disease** Endometriosis**Synonyms** 12z, 12-Z, Z12, Z-12, Z12 Eo, EEC12Z, EEC12Z**Omadused****Age** 37 aastat**Gender** Naised**Morphology** Epiteelilaadsed**Cell type** Epiteelirakk

**12Z rakud | 305733**

**Growth properties** Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** 12Z (Cytioni katalooginumber 305733)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0Q73

**GMO Status** GMO-S1: See rakuliin sisaldab SV40 Large T antigeeni ekspressioonikonstruktsiooni, mis on tarnitud pcDNA3.1 vektori kaudu, võimaldades p53 ja Rb inaktiveerimise kaudu pikendatud proliferatsiooni. Insert on integreeritud inimese endometrioetilise rakuliini 12Z. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

**Biomolekulaarsed andmed**

**Mutational profile**

**Töötlemine**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Doubling time** 31 tundi

**Seeding density** 1–3 x 10<sup>4</sup> rakku/cm<sup>2</sup>

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## 12Z rakud | 305733

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**12Z rakud | 305733**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.