

12Z kennot | 305733

Yleisiä tietoja

Description

12Z-solulinja on peritoneaalisista endometrioottisista vaurioista peräisin oleva kuolematon ihmisen endometrioottinen epiteelisolumalli. Se perustettiin alun perin transfektoimalla primaarisia endometrioottisia epiteelisoluja SV40 large T -antigeenillä, mikä mahdollistaa laajennetun proliferatiivisen kapasiteetin. 12Z-solut ovat sytokeratiiniposiitivisia ja E-kadheriinegatiivisia, mikä erottaa ne epiteelin kaltaiseksi populaatioksi, jolla on invasiivinen fenotyyppi. Näillä soluilla on osoitettu olevan korkea migraatiokyky ja invasiivinen käyttäytyminen in vitro, joka muistuttaa metastoivien karsinoomasolujen, ja ne ilmentävät N-kadheriinia, joka on kadheriini, joka liittyy lisääntyneeseen invasiivisuuteen ja liikkuvuuteen. Tämä molekyyliprofiili tukee niiden käyttöä endometrioosin kannalta merkityksellisten invasiomekanismien ja syöpäbiologiassa havaittujen paralleelien tutkimisessa.

Toiminnallisesti 12Z-solut ilmentävät geenejä, jotka osallistuvat estrogeenin ja progesteronin signalointiin, solunulkoisen matriisin uudelleenmuodostukseen, angiogeneesiin, sytokiinituotantoon sekä prostaglandiini E2:n (PGE2) biosynteesiin ja signalointiin. Niillä on kohonnut matriksin metalloproteiinien MMP-2 ja MMP-9 aktiivisuus, jotka ovat kriittisiä solunulkoisen matriksin komponenttien hajottamisessa ja kudosisinvaasion helpottamisessa. Lisäksi 12Z-solut tuottavat suuria määriä PGE2:ta, joka on tulehdusvälittäjäaine, joka on osallisena endometrioosin patofysiologiassa. Nämä ominaisuudet sekä niiden herkkyys steroidihormoneille tekevät 12Z-soluista tehokkaan in vitro -mallin, jonka avulla voidaan tutkia endometrioottisten vaurioiden syntymisen, invaasion ja hormonaalisen säätelyn molekyylitasoisia perusteita.

Tärkeää on, että viimeaikaiset laadunvalvontatutkimukset ovat vahvistaneet 12Z-solujen geneettisen aitouden STR-profiloinnin (lyhyt tandemtoistuvuus) avulla, mikä vähentää aiempaa huolta ristikontaminaatiosta ja virheellisestä tunnistamisesta endometrioositutkimuksessa. Näitä soluja ja niihin läheisesti liittyvää Z11-linjaa on ehdotettu standardimalleiksi, joilla parannetaan toistettavuutta ja luotettavuutta lisääntymisbiologian ja endometrioositutkimuksen alalla.

Organism Ihminen

Tissue Endometrium, epiteeli

Disease Endometrioosi

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

Ominaisuudet

Age 37 vuotta

Gender Nainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Cell type Epiteelisolu

12Z kennot | 305733

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation 12Z (Cytionin luettelonumero 305733)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0Q73

GMO Status GMO-S1: Tämä solulinja sisältää SV40 Large T -antigeenin ilmentymiskonstruktion, joka on toimitettu pcDNA3.1-vektorin kautta ja joka mahdollistaa pitkittyneen lisääntymisen p53:n ja Rb:n inaktivoinnin avulla. Insertti on integroitu ihmisen endometriottiseen solulinjaan 12Z. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Doubling time 31 tuntia

Seeding density 1–3 x 10⁴ solua/cm²

Freeze medium Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

12Z kennot | 305733

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

12Z kennot | 305733

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.