

ogniwa 12Z | 305733

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa 12Z to nieśmiertelny model ludzkich komórek nabłonka endometriozy pochodzący z otrzewnowych zmian endometriozy. Została ona pierwotnie utworzona poprzez transfekcję pierwotnych komórek nabłonka endometriozy antygenem SV40 large T, umożliwiając zwiększoną zdolność proliferacyjną. Komórki 12Z są dodatkowo pod względem cytokeratyny i ujemnie pod względem E-kadheryny, co wyróżnia je jako populację podobną do nabłonka o fenotypie inwazyjnym. Wykazano, że komórki te wykazują wysoką migrację i inwazyjność in vitro, podobnie jak komórki raka z przerzutami, i wyrażają N-kadherynę, kadherynę związaną ze zwiększoną inwazyjnością i ruchliwością. Ten profil molekularny wspiera ich zastosowanie w badaniu mechanizmów inwazji istotnych dla endometriozy i podobieństw obserwowanych w biologii raka.

Funkcjonalnie, komórki 12Z wyrażają geny zaangażowane w sygnalizację estrogenową i progesteronową, przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej, angiogenezę, produkcję cytokin oraz biosyntezę i sygnalizację prostaglandyny E2 (PGE2). Wykazują one podwyższoną aktywność metaloproteinaz macierzy MMP-2 i MMP-9, które są krytyczne dla degradacji składników macierzy zewnątrzkomórkowej i ułatwiają inwazję tkanek. Co więcej, komórki 12Z wytwarzają wysoki poziom PGE2, mediatora stanu zapalnego związanego z patofizjologią endometriozy. Cechy te, wraz z ich wrażliwością na hormony steroidowe, sprawiają, że komórki 12Z są skutecznym modelem in vitro do badania molekularnych podstaw powstawania zmian endometriozy, inwazji i regulacji hormonalnej.

Co ważne, ostatnie badania kontroli jakości potwierdziły autentyczność genetyczną komórek 12Z poprzez profilowanie STR (krótkich powtórzeń tandemowych), łagodząc wcześniejsze obawy dotyczące zanieczyszczenia krzyżowego i błędnej identyfikacji w badaniach nad endometriozą. Komórki te, wraz z blisko spokrewnioną linią Z11, zostały zaproponowane jako standardowe modele poprawiające odtwarzalność i niezawodność w dziedzinie biologii reprodukcyjnej i badań nad endometriozą.

Organism Człowiek

Tissue Endometrium, nabłonek

Disease Endometrioza

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

Charakterystyka

Age 37 lat

Gender Kobieta

Morphology Podobny do nabłonka

Cell type Komórka nabłonkowa

ogniwa 12Z | 305733

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

12Z (numer katalogowy Cytion 305733)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0Q73

GMO Status

GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera konstrukt ekspresji antygenu SV40 Large T dostarczany za pośrednictwem wektora pcDNA3.1, umożliwiając przedłużoną proliferację poprzez inaktywację p53 i Rb. Wstawka jest zintegrowana z ludzką linią komórek endometriozy 12Z. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Mutational profile

Obsługa

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Doubling time

31 godzin

Seeding density

1–3 x 10⁴ komórek/cm²

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

ogniwa 12Z | 305733

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere** 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

ogniwa 12Z | 305733

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.