

GM12878 rakud | 305439

Üldine teave

Description

GM12878 rakuliin on hästi iseloomustatud inimese lümfoblastoidne rakuliin, mis on transformeeritud Epstein-Barri viirusega (EBV). Seda on kasutatud standardse 1. taseme rakuliinina DNA-elementide entsüklopeedia (ENCODE) projektis, mis teeb sellest ühe kõige laialdasemalt uuritud mudeli geneetilisteks ja transkriptoomilisteks uuringuteks. GM12878 pärineb naissoost doonorilt ja on tuntud oma stabiilse karüotüübi poolest võrreldes sagedamini kasutatavate rakuliinidega, nagu HeLa ja HEK293, millel on ulatuslik kromosoomide aneuploidsus.

Need rakud on eriti väärtuslikud kromatiini struktuuri, geeniregulatsiooni ja immuunvastuse mõistmiseks nende B-lümfotsüütide liini tõttu. GM12878 rakke on kasutatud kõrge läbilaskevõimega uuringutes, sealhulgas CHIP-seq analüüsid transkriptsioonifaktorite seondumiskohtade ja histoonmodifikatsioonide kaardistamiseks, MNase-seq nukleosoomide kaardistamiseks ja RNA-seq transkriptoomi profiilide koostamiseks. GM12878 uuringutes on selgitatud transkriptsioonifaktorite koostoimete aspekte, näiteks FOXM1 ja selle kaasfaktoritega seondumist ning nende rolli rakutsükli ja immuunreaktsiooniradadel.

Lisaks on GM12878 olnud platvormiks genoomi redigeerimise katsetele, mille eesmärk on luua võrdlusmaterjalid järgmise põlvkonna sekveneerimise (NGS) valideerimiseks. Näiteks CRISPR/Cas9-vahendatud genoomimuudatused on viidud GM12878-sse, et töötada välja kontrollmaterjalid vähimutatatsioonide analüüsiks, mis illustreerib selle kasutamist täppismeditsiinis ja geneetilistes testides.

Organism Inimene

Tissue Perifeerne veri

Synonyms GM-12878

Omadused

Age Täpsustamata

Gender Naised

Morphology Lümfoblastilaadsed

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation GM12878 (Cytioni katalooginumber 305439)

Biosafety level 2

GM12878 rakud | 305439

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7526

Biomolekulaarsed andmed

Viruses Transformant: Epstein-Barri viirus (EBV)

Mutational profile Mutatsioon: CYP2C19, p.Pro227Pro (c.681G>A)

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada keskkonda 15% FBS-ga

Subculturing Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist laske rakkudel vähemalt 24 tundi külmutusprotsessist taastuda

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.

GM12878 rakud | 305439

**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°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°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°C , 5% 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°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°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

GM12878 rakud | 305439

**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.