

GM12878 Solut | 305439

Yleisiä tietoja

Description

GM12878-solulinja on hyvin karakterisoitu ihmisen lymfoblastoidinen solulinja, joka on muunnettu Epstein-Barr-viruksella (EBV). Sitä on käytetty ENCODE-hankkeessa (Encyclopedia of DNA Elements) vakiotason 1 solulinjana, mikä tekee siitä yhden laajimmin tutkituista malleista geneettisessä ja transkriptomitutkimuksessa. GM12878 on peräisin naispuoliselta luovuttajalta, ja se tunnetaan vakaasta karyotyypistään verrattuna yleisimmin käytettyihin solulinjoihin, kuten HeLa ja HEK293, joilla on laaja kromosomianeuploidia.

Nämä solut ovat erityisen arvokkaita kromatiinin rakenteen, geenien säätelyn ja immuunivasteen ymmärtämisessä, koska ne ovat B-lymfosyyttilinjaa. GM12878-soluja on käytetty korkean läpimenon tutkimuksissa, kuten ChIP-seq-analyseissä transkriptiotekijöiden sitoutumiskohtien ja histonimodifikaatioiden kartoittamiseksi, MNase-seq:ssä nukleosomien kartoittamiseksi ja RNA-seq:ssä transkriptomiprofiilien määrittämiseksi. GM12878:lla tehdyissä tutkimuksissa on selvitetty transkriptiotekijöiden vuorovaikutuksen näkökohtia, kuten FOXM1:n ja sen kofaktorien sitoutumista, sekä niiden roolia solusykliissä ja immuunivasteiden reiteissä.

Lisäksi GM12878 on toiminut alustana genomien muokkauskokeille, joiden tarkoituksena on luoda vertailumateriaaleja seuraavan sukupolven sekvensoinnin (NGS) validointia varten. GM12878:aan on esimerkiksi tehty CRISPR/Cas9-välitteisiä genomimuutoksia syövän mutaatioanalyysijä varten tarkoitettujen vertailumateriaalien kehittämiseksi, mikä osoittaa sen sovellettavuuden täsmälääketieteessä ja geneettisessä testauksessa.

Organism Ihminen

Tissue Perifeerinen veri

Synonyms GM-12878

Ominaisuudet

Age Määrittelemätön

Gender Nainen

Morphology Lymfoblastien kaltaiset

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation GM12878 (Cytionin luettelonumero 305439)

GM12878 Solut | 305439

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7526

Biomolekyylitiedot

Viruses	Muuntaja: Epstein-Barr-virus (EBV)
Mutational profile	Mutaatio: CYP2C19, p.Pro227Pro (c.681G>A)

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 15 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $3 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.
Post-Thaw Recovery	Sulatuksen jälkeen solujen annetaan palautua pakastuksesta vähintään 24 tuntia
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

GM12878 Solut | 305439

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 mikrobilääkettä, 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-prosenttisella 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 tarttuvia, 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.

GM12878 Solut | 305439

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 ja molekyylianalyysi

Sterility

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

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