

Cellule GM12878 | 305439

Informazioni generali

Description

La linea cellulare GM12878 è una linea cellulare linfoblastoide umana ben caratterizzata, trasformata con il virus di Epstein-Barr (EBV). È stata utilizzata come linea cellulare standard di livello 1 nel progetto Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE), diventando uno dei modelli più studiati per la ricerca genetica e trascrittomica. Proveniente da una donatrice femmina, GM12878 è nota per il suo cariotipo stabile rispetto a linee cellulari più comunemente utilizzate come HeLa e HEK293, che presentano un'ampia aneuploidia cromosomica.

Queste cellule sono particolarmente preziose per la comprensione della struttura della cromatina, della regolazione genica e della risposta immunitaria, grazie al loro linfocita B. Le cellule GM12878 sono state impiegate in studi ad alto rendimento, tra cui analisi ChIP-seq per mappare i siti di legame dei fattori di trascrizione e le modifiche degli istoni, MNase-seq per la mappatura dei nucleosomi e RNA-seq per la profilazione del trascrittoma. Gli studi condotti con GM12878 hanno chiarito aspetti delle interazioni tra fattori di trascrizione, come il legame di FOXM1 e dei suoi cofattori, e il loro ruolo nel ciclo cellulare e nelle vie di risposta immunitaria.

Inoltre, GM12878 è servita come piattaforma per esperimenti di editing del genoma volti a creare materiali di riferimento per la convalida del sequenziamento di nuova generazione (NGS). Ad esempio, le modifiche del genoma mediate da CRISPR/Cas9 sono state introdotte in GM12878 per sviluppare materiali di controllo per l'analisi delle mutazioni del cancro, illustrando la sua applicazione nella medicina di precisione e nei test genetici.

Organism Umano**Tissue** Sangue periferico**Synonyms** GM-12878

Caratteristiche

Age Non specificato**Gender** Donna**Morphology** Linfoblasto-simile**Growth properties** Sospensione

Dati normativi

Citation GM12878 (numero di catalogo Cytion 305439)

Cellule GM12878 | 305439

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7526

Dati biomolecolari

Viruses	Trasformante: Virus di Epstein-Barr (EBV)
Mutational profile	Mutazione: CYP2C19, p.Pro227Pro (c.681G>A)

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 15% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Mantenere le colture aggiungendo o sostituendo periodicamente il terreno. Avviare le colture con una densità di 5×10^5 cellule/ml e mantenere la concentrazione cellulare compresa tra 3×10^5 e 1×10^6 cellule/ml per una crescita ottimale.
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento per almeno 24 ore
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule GM12878 | 305439

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule GM12878 | 305439

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.