

GM12878 šūnas | 305439

Vispārīga informācija

Description

GM12878 šūnu līnija ir labi raksturota cilvēka limfoblastoīdu šūnu līnija, kas transformēta ar Epšteina-Barra vīrusu (EBV). Tā ir izmantota kā standarta 1. līmeņa šūnu līnija DNS elementu enciklopēdijas (ENCODE) projektā, padarot to par vienu no visplašāk pētītajiem modeļiem ģenētiskajiem un transkriptomikas pētījumiem. GM12878, kas iegūta no sieviešu dzimuma donorēm, ir pazīstama ar savu stabilo kariotipu salīdzinājumā ar biežāk izmantotajām šūnu līnijām, piemēram, HeLa un HEK293, kurām ir plaša hromosomu aneuploidija.

Šīs šūnas ir īpaši vērtīgas, lai izprastu hromatīna struktūru, gēnu regulāciju un imūnreakciju, jo tās ir B-limfocītu līnija. GM12878 šūnas ir izmantotas augstas veiktspējas pētījumos, tostarp ChIP-seq analizēs, lai kartētu transkripcijas faktoru saistīšanās vietas un histonu modifikācijas, MNase-seq nukleosomu kartēšanai un RNA-seq transkriptoma profilēšanai. Ar GM12878 veiktajos pētījumos ir noskaidroti tādi transkripcijas faktoru mijiedarbības aspekti kā FOXM1 un tā kofaktoru saistīšanās un to loma šūnu ciklā un imūnreakcijas ceļos.

Turklāt GM12878 ir kalpojis kā platforma genoma rediģēšanas eksperimentiem, kuru mērķis ir izveidot references materiālus nākamās paaudzes sekvenēšanas (NGS) validācijai. Piemēram, ar CRISPR/Cas9 starpniecību veiktas genoma modifikācijas GM12878, lai izstrādātu kontroles materiālus vēža mutāciju analīzei, tādējādi ilustrējot tā pielietojumu precīzajā medicīnā un ģenētiskajā testēšanā.

Organism Cilvēks

Tissue Perifērās asinis

Synonyms GM-12878

Raksturojums

Age Nav norādīts

Gender Sievietes

Morphology Limfoblastiem līdzīgs

Growth properties Apturēšana

Normatīvie dati

Citation GM12878 (Cytion kataloga numurs 305439)

Biosafety level 2

GM12878 šūnas | 305439

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7526

Biomolekulārie dati

Viruses Transformants: Epšteina-Barra vīruss (EBV)

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

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 15% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 1×10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas ļaujiet šūnām vismaz 24 stundas atgūties no sasaldēšanas procesa

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

GM12878 šūnas | 305439

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

GM12878 šūnas | 305439

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.