

Bunky GM12878 | 305439**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia GM12878 je dobre charakterizovaná ľudská lymfoblastoidná bunková línia transformovaná vírusom Epsteina-Barrovej (EBV). Používa sa ako štandardná bunková línia Tier 1 v projekte Encyklopédia prvkov DNA (ENCODE), vďaka čomu je jedným z najrozšírenejších modelov pre genetický a transkriptomický výskum. GM12878 pochádza od ženského darcu a je známa svojím stabilným karyotypom v porovnaní s bežnejšie používanými bunkovými líniami, ako sú HeLa a HEK293, ktoré majú rozsiahle chromozomálne aneuploidie.

Tieto bunky sú obzvlášť cenné na pochopenie štruktúry chromatinu, regulácie génov a imunitnej odpovede vďaka ich B-lymfocytovej línii. Bunky GM12878 boli použité vo vysoko výkonných štúdiách vrátane analýz ChIP-seq na mapovanie väzbových miest transkripčných faktorov a modifikácií histónov, MNase-seq na mapovanie nukleozómov a RNA-seq na profilovanie transkriptómu. Štúdie s GM12878 objasnili aspekty interakcií transkripčných faktorov, ako je väzba FOXM1 a jeho kofaktorov, a ich úlohy v bunkovom cykle a dráhach imunitnej odpovede.

Okrem toho GM12878 slúžil ako platforma pre experimenty s úpravou genómu zamerané na vytvorenie referenčných materiálov pre validáciu sekvenovania novej generácie (NGS). Do GM12878 boli napríklad zavedené modifikácie genómu sprostredkované CRISPR/Cas9 s cieľom vytvoriť kontrolné materiály na analýzu mutácií rakoviny, čo ilustruje jeho využitie v presnej medicíne a genetickom testovaní.

Organism Ľudské**Tissue** Periférna krv**Synonyms** GM-12878**Charakteristika****Age** Nešpecifikované**Gender** Ženy**Morphology** Lymfoblastom podobné**Growth properties** Pozastavenie**Regulačné údaje****Citation** GM12878 (katalógové číslo Cytion 305439)**Biosafety level** 2

Bunky GM12878 | 305439**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7526**Biomolekulárne údaje****Viruses** Transformant: Epstein-Barrovej (EBV)**Mutational profile** Mutácia: CYP2C19, p.Pro227Pro (c.681G>A)**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 15 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou 5×10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržiavajte koncentráciu buniek v rozmedzí 3×10^5 až 1×10^6 buniek/ml.**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení nechajte bunky aspoň 24 hodín zotaviť sa z procesu zmrazovania**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky GM12878 | 305439

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky GM12878 | 305439

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.