

AB2.2 Buňky | 305738

Obecné informace

Description

Buněčná linie AB2.2 je široce používaná linie myších embryonálních kmenových buněk (ES) odvozená z myšího kmene 129S7 (známého také jako 129P2/OlaHsd). Díky své robustní schopnosti expanze in vitro a genetické manipulace hraje významnou roli při cílení genů a tvorbě transgenních myší. Buňky AB2.2 jsou pluripotentní, jsou schopny přispívat do všech zárodečných vrstev a mají zásadní význam pro tvorbu chimér schopných zárodečné linie. Stejně jako mnoho jiných linií ES buněk udržovaných po delší dobu kultivace je však i AB2.2 náchylná k chromozomální nestabilitě, zejména k aneuploidii chromozomu 8.

Cytogenetická analýza AB2.2 a jejích sublinek odhalila vysokou frekvenci chromozomálních abnormalit, přičemž zvláště časté jsou mozaikové a čisté trisomie 8. V jedné studii AB2.2 vykazoval mozaikový karyotyp zahrnující zisky chromozomů 8 a Y, včetně konfigurací jako 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Mezi jejími podliniemi byly identifikovány další karyotypové anomálie, jako jsou dvojité trizomie zahrnující chromozomy 8 a 11 a komplexní derivované chromozomy vzniklé nebalancovanými translokacemi zahrnujícími chromozom 8. Tyto strukturální a numerické aberace jsou spojeny se sníženou účinností zárodečného přenosu a jejich přítomnost komplikuje interpretaci vztahů mezi genotypem a fenotypem u chimérických zvířat.

Vzhledem ke genetickému pozadí a náchylnosti k chromozomální nestabilitě zůstává AB2.2 mocným nástrojem v myší genetice, vyžaduje však pečlivou kontrolu kvality. Rutinní screening karyotypu - včetně G-bandingu i FISH - se doporučuje před zahájením injekce blastocysty, aby byla zajištěna chromozomální integrita nezbytná pro spolehlivý přenos zárodečné linie a přesné fenotypové analýzy.

Organism Myš

Tissue Blastocysta

Applications Výzkum kmenových buněk

Charakteristika

Age Embrya

Gender Muži

Cell type Embryonální kmenové buňky

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation AB2.2 (katalogové číslo Cytion 305738)

AB2.2 Buňky | 305738

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_C261

Biomolekulární data

Mutational profile

Zpracování

Split ratio Doporučuje se poměr 1:4 až 1:7

Seeding density 3 až 5 x 10⁴ buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

AB2.2 Buňky | 305738**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

AB2.2 Buňky | 305738

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.