

AB2.2 Κύτταρα | 305738**Γενικές πληροφορίες****Description**

Η κυτταρική σειρά AB2.2 είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη κυτταρική σειρά εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων (ES) ποντικού που προέρχεται από το στέλεχος ποντικού 129S7 (επίσης γνωστό ως 129P2/OlaHsd). Έχει διαδραματίσει εξέχοντα ρόλο στη γονιδιακή στόχευση και τη δημιουργία διαγονιδιακών ποντικών λόγω της ισχυρής ικανότητάς της για in vitro επέκταση και γενετικό χειρισμό. Τα κύτταρα AB2.2 είναι πολυδύναμα, ικανά να συνεισφέρουν σε όλα τα γεννητικά στρώματα και έχουν συμβάλει καθοριστικά στην παραγωγή γεννητικά ικανών χιμαιρών. Ωστόσο, όπως και πολλές σειρές κυττάρων ES που διατηρούνται για παρατεταμένες περιόδους καλλιέργειας, το AB2.2 είναι επιρρεπές σε χρωμοσωμική αστάθεια, ιδίως σε ανευπλοειδία που αφορά το χρωμόσωμα 8.

Η κυτταρογενετική ανάλυση της AB2.2 και των υπο-γραμμών της αποκάλυψε υψηλή συχνότητα χρωμοσωμικών ανωμαλιών, με ιδιαίτερα συχνές τις μωσαϊκές και καθарές τρισωμίες 8. Σε μία μελέτη, το AB2.2 εμφάνισε μωσαϊκό καρυότυπο που περιλάμβανε κέρδη των χρωμοσωμάτων 8 και Y, συμπεριλαμβανομένων διαμορφώσεων όπως 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Μεταξύ των υπο-γραμμών του, εντοπίστηκαν πρόσθετες καρυοτυπικές ανωμαλίες, όπως διπλές τρισωμίες που αφορούν τα χρωμοσώματα 8 και 11, και σύνθετα παράγωγα χρωμοσώματα που προκύπτουν από μη ισορροπημένες μετατοπίσεις που αφορούν το χρωμόσωμα 8. Αυτές οι δομικές και αριθμητικές ανωμαλίες σχετίζονται με μειωμένη αποτελεσματικότητα της μετάδοσης από τη γεννητική γραμμή και η παρουσία τους περιπλέκει την ερμηνεία των σχέσεων γονότυπου-φαινότυπου στα χιμαιρικά ζώα.

Δεδομένου του γενετικού υπόβαθρου και της ευαισθησίας του σε χρωμοσωμική αστάθεια, το AB2.2 παραμένει ένα ισχυρό εργαλείο στη γενετική των ποντικών, αλλά απαιτεί προσεκτικό ποιοτικό έλεγχο. Συνιστάται ο έλεγχος καρυότυπου ρουτίνας -συμπεριλαμβανομένων τόσο του G-banding όσο και του FISH- πριν προχωρήσει η έγχυση βλαστοκύστης, ώστε να διασφαλιστεί η χρωμοσωμική ακεραιότητα που είναι απαραίτητη για αξιόπιστη μετάδοση από τη βλαστική γραμμή και ακριβείς φαινοτυπικές αναλύσεις.

Organism Ποντίκι**Tissue** Βλαστοκύστη**Applications** Έρευνα για τα βλαστοκύτταρα**Χαρακτηριστικά****Age** Έμβρυο**Gender** Άντρας**Cell type** Εμβρυϊκό βλαστικό κύτταρο**Growth properties** Προσκολλημένο

AB2.2 Κύτταρα | 305738**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** AB2.2 (αριθμός καταλόγου Cytion 305738)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_C261**Βιομοριακά δεδομένα****Mutational profile****Χειρισμός****Seeding density** 3 έως 5×10^4 κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

AB2.2 Κύτταρα | 305738

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.