

AB2.2 Rakud | 305738

Üldine teave

Description

AB2.2 rakuliin on laialdaselt kasutatav hiirte embrüonaalse tüve (ES) rakuliin, mis on saadud 129S7 (tuntud ka kui 129P2/OlaHsd) hiirtüvest. See on mänginud silmapaistvat rolli geenide sihitamise ja transgeensete hiirte genereerimisel tänu oma tugevale võimele in vitro laienemiseks ja geneetiliseks manipulatsiooniks. AB2.2 rakud on pluripotentsed, võimelised panustama kõikidesse sugukihti ja neil on olnud oluline roll sugukonna-kompetentsete kimääride tootmisel. Kuid nagu paljud ES rakuliinid, mida hoitakse pikema aja jooksul, on ka AB2.2 kalduvus kromosoomide ebastabiilsusele, eriti aneuploidsusele, mis hõlmab kromosoomi 8.

AB2.2 ja selle alamliinide tsütogeneetiline analüüs on näidanud kromosoomianomaaliade suurt sagedust, kusjuures eriti levinud on mosaiikne ja puhas trisoomia 8. Ühes uuringus ilmnes AB2.2 mosaiikne karyotüüp, mis hõlmas kromosoomide 8 ja Y suurenemist, sealhulgas selliseid konfiguratsioone nagu 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Selle alamliinide hulgas tuvastati täiendavaid karyotüübi anomaaliaid, nagu topelt trisoomia, mis hõlmasid kromosoomi 8 ja 11, ning kompleksed tuletatud kromosoomid, mis tekkisid tasakaalustamata translokatsioonidest, mis hõlmasid kromosoomi 8. Need struktuurilised ja numbrilised kõrvalekalded on seotud vähenenud sugupoolte edasikandumise tõhususega ning nende esinemine raskendab genotüübi ja fenotüübi vaheliste suhete tõlgendamist kimeerilistel loomadel.

Arvestades geneetilist tausta ja vastuvõtlikkust kromosoomide ebastabiilsusele, on AB2.2 endiselt võimas vahend hiirte geneetikas, kuid see nõuab hoolikat kvaliteedikontrolli. Enne blastotsüsti süstimist on soovitatav teha rutiinne karyotüübi sõelumine, mis hõlmab nii G-bandingi kui ka FISH-meetodit, et tagada kromosoomide terviklikkus, mis on vajalik usaldusväärseks suguravi ülekandmiseks ja täpseks fenotüübi analüüsiks.

Organism

Hiir

Tissue

Blastotsüst

Applications

Tüviraku-uuringud

Omadused

Age

Embrüo

Gender

Mees

Cell type

Embrüonaalne tüvirakk

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

AB2.2 (Cytioni katalooginumber 305738)

AB2.2 Rakud | 305738

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_C261

Biomolekulaarsed andmed

Mutational
profile

Töötlemine

Seeding
density

3 kuni 5×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal

2 kuni 3 korda nädalas

Freeze
medium

Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

AB2.2 Rakud | 305738

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

AB2.2 Rakud | 305738

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.