

AB2.2 Šūnas | 305738

Vispārīga informācija

Description

AB2.2 šūnu līnija ir plaši izmantota peļu embrionālo cilmes (ES) šūnu līnija, kas iegūta no 129S7 (pazīstama arī kā 129P2/OlaHsd) peļu celma. Tā ir bijusi nozīmīga gēnu mērķēšanas un transgēno peļu radīšanas procesā, jo tai ir liela spēja paplašināties in vitro un veikt ģenētiskās manipulācijas. AB2.2 šūnas ir pluripotentas, spēj veidot visus dzimumšūnu slāņus un ir bijušas noderīgas, lai radītu dzimumšūnas, kas atbilst dzimumlīnijai. Tomēr AB2.2, tāpat kā daudzām citām ES šūnu līnijām, kas tiek uzturētas ilgāku kultivēšanas laiku, ir tendētas uz hromosomu nestabilitāti, jo īpaši aneuploīdijām, kas saistītas ar 8. hromosomu.

AB2.2 un tās apakšlīniju citogenētiskā analīze ir atklājusi augstu hromosomu anomāliju biežumu, īpaši bieži sastopama mozaika un tīra trisomija 8. Vienā pētījumā AB2.2 tika konstatēts mozaikveida kariotips, kas ietvēra 8. un Y hromosomu pieaugumu, tostarp tādas konfigurācijas kā 42,XY,+Y,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Tās apakšlīnijās tika konstatētas papildu kariotipiskas anomālijas, piemēram, dubultas trisomijas, kas ietver 8. un 11. hromosomu, un sarežģītas atvasinātās hromosomas, kas rodas no nelīdzsvarotām translokācijām, kas ietver 8. hromosomu. Šīs strukturālās un skaitliskās aberācijas ir saistītas ar samazinātu dzimumlīnijas transmisijas efektivitāti, un to klātbūtne sarežģī genotipa un fenotipa attiecību interpretāciju himēriskos dzīvniekos.

Ņemot vērā AB2.2 ģenētisko izcelsmi un uzņēmību pret hromosomu nestabilitāti, tā joprojām ir spēcīgs peļu ģenētikas instruments, taču tai nepieciešama rūpīga kvalitātes kontrole. Lai nodrošinātu hromosomu integritāti, kas nepieciešama drošai dzimumlīnijas transmisijai un precīzai fenotipiskai analīzei, pirms blastocistu ievadīšanas ieteicams veikt regulāru kariotipa skrīningu, tostarp G-bandingu un FISH.

Organism Pele

Tissue Blastocista

Applications Cilmes šūnu pētniecība

Raksturojums

Age Embrijs

Gender Virieši

Cell type Embrionālās cilmes šūnas

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation AB2.2 (Cytion kataloga numurs 305738)

AB2.2 Šūnas | 305738

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_C261

Biomolekulārie dati**Mutational profile****Darbs ar**

Seeding density	3 līdz 5×10^4 šūnas/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

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.
----------------------	---

AB2.2 Šūnas | 305738

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.

AB2.2 Šūnas | 305738

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