

AB2.2 Komórki | 305738**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa AB2.2 jest szeroko stosowaną myszą embrionalną linią komórkową (ES) pochodzącą ze szczepu myszy 129S7 (znanego również jako 129P2/OlaHsd). Odegrała ona znaczącą rolę w ukierunkowaniu genów i generowaniu transgenicznych myszy ze względu na jej solidną zdolność do ekspansji in vitro i manipulacji genetycznych. Komórki AB2.2 są pluripotencjalne, zdolne do współtworzenia wszystkich warstw zarodkowych i odegrały kluczową rolę w produkcji zarodkowych chimer. Jednakże, podobnie jak wiele linii komórek ES utrzymywanych przez dłuższy okres hodowli, AB2.2 są podatne na niestabilność chromosomalną, zwłaszcza aneuploidię obejmującą chromosom 8.

Analiza cytogenetyczna AB2.2 i jego podlinii ujawniła wysoką częstotliwość nieprawidłowości chromosomalnych, przy czym mozaika i czysta trisomia 8 są szczególnie powszechne. W jednym z badań AB2.2 wykazywał kariotyp mozaikowy obejmujący wzmocnienia chromosomów 8 i Y, w tym konfiguracje takie jak 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Wśród jego podlinii zidentyfikowano dodatkowe anomalie kariotypowe, takie jak podwójne trisomie obejmujące chromosomy 8 i 11 oraz złożone chromosomy pochodne wynikające z niezrównoważonych translokacji obejmujących chromosom 8. Te strukturalne i liczbowe aberracje są związane ze zmniejszoną wydajnością transmisji w linii zarodkowej, a ich obecność komplikuje interpretację relacji genotyp-fenotyp u zwierząt chimericznych.

Biorąc pod uwagę tło genetyczne i podatność na niestabilność chromosomalną, AB2.2 pozostaje potężnym narzędziem w genetyce myszy, ale wymaga starannej kontroli jakości. Rutynowe badanie kariotypu - w tym zarówno G-banding, jak i FISH - jest zalecane przed przystąpieniem do wstrzyknięcia blastocysty w celu zapewnienia integralności chromosomalnej niezbędnej do niezawodnej transmisji linii zarodkowej i dokładnych analiz fenotypowych.

Organism Mysz**Tissue** Blastocysta**Applications** Badania nad komórkami macierzystymi**Charakterystyka****Age** Zarodek**Gender** Męczyzna**Cell type** Embrionalne komórki macierzyste**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

AB2.2 Komórki | 305738

Citation AB2.2 (numer katalogowy Cytion 305738)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C261

Dane biomolekularne

Mutational profile

Obsługa

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:7

Seeding density 3 do 5×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

AB2.2 Komórki | 305738

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.