

AB2.2 Bunky | 305738

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia AB2.2 je široko využívaná línia myších embryonálnych kmeňových buniek (ES) odvodená od kmeňa 129S7 (známeho aj ako 129P2/OlaHsd). Zohráva významnú úlohu pri celení génov a tvorbe transgénnych myší vďaka svojej robustnej schopnosti expanzie in vitro a genetickej manipulácie. Bunky AB2.2 sú pluripotentné, schopné prispievať do všetkých zárodočných vrstiev a zohrávajú dôležitú úlohu pri tvorbe chimér kompatibilných so zárodočnou líniou. Podobne ako mnohé iné bunkové línie ES udržiavané počas dlhšieho kultivačného obdobia je však aj AB2.2 náchylná na chromozomálnu nestabilitu, najmä na aneuploidiu chromozómu 8.

Cytogenetická analýza AB2.2 a jej sublínii odhalila vysokú frekvenciu chromozómových abnormalít, pričom obzvlášť časté sú mozaikové a čisté trizómie 8. V jednej štúdii AB2.2 vykazoval mozaikový karyotyp zahŕňajúci zisky chromozómov 8 a Y, vrátane konfigurácií ako 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Medzi jeho sublíniami boli identifikované ďalšie karyotypové anomálie, ako napríklad dvojité trizómie zahŕňajúce chromozómy 8 a 11 a komplexné derivované chromozómy vznikajúce z nebalancovaných translokácií zahŕňajúcich chromozóm 8. Tieto štrukturálne a numerické aberácie sú spojené so zníženou účinnosťou zárodočného prenosu a ich prítomnosť komplikuje interpretáciu genotypovo-fenotypových vzťahov u chimérnych zvierat.

Vzhľadom na genetické pozadie a náchylnosť na chromozomálnu nestabilitu zostáva AB2.2 silným nástrojom v genetike myší, vyžaduje si však starostlivú kontrolu kvality. Rutinné vyšetrenie karyotypu - vrátane G-bandingu a FISH - sa odporúča pred vykonaním injekcie blastocysty, aby sa zabezpečila chromozomálna integrita potrebná na spoľahlivý zárodočný prenos a presné fenotypové analýzy.

Organism Myš

Tissue Blastocysta

Applications Výskum kmeňových buniek

Charakteristika

Age Embryo

Gender Muži

Cell type Embryonálna kmeňová bunka

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation AB2.2 (katalógové číslo Cytion 305738)

AB2.2 Bunky | 305738

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C261

Biomolekulárne údaje

Mutational profile

Spracovanie

Seeding density 3 až 5×10^4 buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

AB2.2 Bunky | 305738

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

AB2.2 Bunky | 305738

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.