

AB2.2 Celler | 305738

Generell informasjon

Description

AB2.2-cellelinjen er en mye brukt embryonal stamcellelinje (ES-cellelinje) fra musestammen 129S7 (også kjent som 129P2/OlaHsd). Den har spilt en fremtredende rolle i genmålretting og generering av transgene mus på grunn av sin robuste kapasitet for in vitro-ekspansjon og genetisk manipulering. AB2.2-celler er pluripotente, i stand til å bidra til alle kimplagene og har spilt en viktig rolle i produksjonen av kimlinjekompetente kimærer. I likhet med mange ES-cellelinjer som opprettholdes over lengre kulturperioder, er AB2.2 imidlertid utsatt for kromosomal ustabilitet, spesielt aneuploidi som involverer kromosom 8.

Cytogenetiske analyser av AB2.2 og dens sublinjer har avdekket en høy frekvens av kromosomavvik, der mosaikk og ren trisomi 8 er spesielt vanlig. I en studie viste AB2.2 en mosaikk-karyotype som involverte gevinster av kromosom 8 og Y, inkludert konfigurasjoner som 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Blant underlinjene ble det identifisert ytterligere karyotypiske anomalier, som doble trisomier som involverer kromosom 8 og 11, og komplekse avledede kromosomer som oppstår fra ubalanserte translokasjoner som involverer kromosom 8. Disse strukturelle og numeriske avvikene er forbundet med redusert effektivitet i kimlinjeoverføringen, og forekomsten av dem kompliserer tolkningen av genotype-fenotypeforhold hos kimære dyr.

På grunn av sin genetiske bakgrunn og følsomhet for kromosomal ustabilitet er AB2.2 fortsatt et kraftig verktøy i musegenetikk, men det krever nøye kvalitetskontroll. Rutinemessig karyotypescreening - inkludert både G-banding og FISH - anbefales før blastocystinjeksjon for å sikre den kromosomale integriteten som er nødvendig for pålitelig kimlinjeoverføring og nøyaktige fenotypiske analyser.

Organism Mus

Tissue Blastocyst

Applications Stamcelleforskning

Kjennetegn

Age Embryo

Gender Mann

Cell type Embryonale stamceller

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation AB2.2 (Cytion katalognummer 305738)

AB2.2 Celler | 305738

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C261

Biomolekylære data

Mutational profile

Håndtering

Split ratio Et forhold på 1:4 til 1:7 anbefales

Seeding density 3 til 5×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

AB2.2 Celler | 305738

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

AB2.2 Cells | 305738

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.