

AB2.2 Cellen | 305738

Algemene informatie

Description

De AB2.2 cellijn is een veelgebruikte embryonale stamcellijn afgeleid van de 129S7 (ook bekend als 129P2/OlaHsd) muizenstam. Het heeft een prominente rol gespeeld in gen targeting en transgene muizengeneratie vanwege de robuuste capaciteit voor in vitro expansie en genetische manipulatie. AB2.2 cellen zijn pluripotent, in staat om bij te dragen aan alle kiemlagen en hebben een belangrijke rol gespeeld bij het produceren van kiembaancompetente chimaeren. Net als veel ES-cellijnen die gedurende langere kweekperiodes in stand worden gehouden, is AB2.2 echter gevoelig voor chromosomale instabiliteit, met name aneuploidie waarbij chromosoom 8 betrokken is.

Cytogenetische analyse van AB2.2 en haar sublijnen heeft een hoge frequentie van chromosoomafwijkingen aan het licht gebracht, waarbij mozaïek en pure trisomie 8 bijzonder vaak voorkomen. In één onderzoek vertoonde AB2.2 een mozaïek karyotype met toenames van chromosomen 8 en Y, waaronder configuraties als 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Onder de sublijnen werden aanvullende karyotypische afwijkingen geïdentificeerd, zoals dubbele trisomieën met chromosomen 8 en 11, en complexe afgeleide chromosomen die het gevolg zijn van onevenwichtige translocaties met chromosoom 8. Deze structurele en numerieke afwijkingen worden in verband gebracht met een verminderde efficiëntie van kiembaantransmissie en hun aanwezigheid bemoeilijkt de interpretatie van genotype-fenotype relaties in chimere dieren.

Gezien de genetische achtergrond en gevoeligheid voor chromosomale instabiliteit, blijft AB2.2 een krachtig hulpmiddel in de muizengenetica, maar het vereist een zorgvuldige kwaliteitscontrole. Routinematige screening van het karyotype, inclusief zowel G-banding als FISH, wordt aanbevolen voordat wordt overgegaan tot blastocystinjectie om de chromosomale integriteit te waarborgen die nodig is voor betrouwbare kiembaanoverdracht en nauwkeurige fenotypische analyses.

Organism Muis

Tissue Blastocyste

Applications Stamcelonderzoek

Kenmerken

Age Embryo

Gender Mannelijk

Cell type Embryonale stamcel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

AB2.2 Cellen | 305738

Citation AB2.2 (Cytion catalogusnummer 305738)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C261

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile

Omgaan met

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:7 wordt aanbevolen

Seeding density 3 tot 5×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

AB2.2 Cellen | 305738

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

AB2.2 Cellen | 305738

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.