

## AB2.2 Solut | 305738

## Yleisiä tietoja

## Description

AB2.2-solulinja on laajalti käytetty hiirten alkion kantasolulinja (ES-solulinja), joka on peräisin 129S7-hiirikannasta (tunnetaan myös nimellä 129P2/OlaHsd). Se on ollut merkittävässä asemassa geenien kohdentamisessa ja siirtogeenisten hiirten tuottamisessa, koska sillä on vankka kyky in vitro -laajentumiseen ja geneettiseen manipulointiin. AB2.2-solut ovat pluripotenttejä ja kykenevät osallistumaan kaikkiin sukukerroksiin, ja ne ovat olleet keskeisessä asemassa sukukypsien kimeerien tuottamisessa. Kuten monet ES-solulinjat, joita ylläpidetään pitkiä viljelyjaksoja, AB2.2 on kuitenkin altis kromosomi-instabiilisuudelle, erityisesti aneuploidialle, johon liittyy kromosomi 8.

AB2.2:n ja sen alalinjojen sytogeneettiset analyysit ovat paljastaneet kromosomipoikkeavuuksien suuren esiintymistiheyden, ja erityisen yleisiä ovat mosaiikkimaiset ja puhtaat trisomiat 8. Eräässä tutkimuksessa AB2.2:lla oli mosaiikkimainen karyotyyppi, johon kuului kromosomien 8 ja Y lisääntyminen, mukaan lukien kokoonpanot, kuten 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Sen alalinjoista tunnistettiin muita karyotyypisiä poikkeavuuksia, kuten kaksoistrisomia, joissa oli mukana kromosomit 8 ja 11, ja monimutkaisia johdannaiskromosomeja, jotka johtuvat kromosomin 8 epätasapainoisista translokaatioista. Nämä rakenteelliset ja numeeriset poikkeavuudet liittyvät heikentyneeseen sukusolujen siirtymistehokkuuteen, ja niiden esiintyminen vaikeuttaa genotyyppi-fenotyypisuhteiden tulkintaa kimeerisissä eläimissä.

Ottaen huomioon AB2.2:n geneettinen tausta ja alttius kromosomien epävakauteen AB2.2 on edelleen tehokas väline hiirien genetiikassa, mutta se vaatii huolellista laadunvalvontaa. Rutiininomainen karyotyypiseulonta, johon sisältyy sekä G-banding että FISH, suositellaan tehtäväksi ennen blastokystainjektioita, jotta voidaan varmistaa kromosomien eheys, joka on välttämätön luotettavan sukusolujen siirtymisen ja tarkkojen fenotyypisten analyysien kannalta.

**Organism** Hiiri

**Tissue** Blastokysta

**Applications** Kantasolututkimus

## Ominaisuudet

**Age** Alkio

**Gender** Mies

**Cell type** Alkion kantasolu

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

## AB2.2 Solut | 305738

**Citation** AB2.2 (Cytionin luettelonumero 305738)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_C261

## Biomolekyylitiedot

**Mutational profile**

## Käsittely

**Seeding density** 3–5 x 10<sup>4</sup> solua/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## AB2.2 Solut | 305738

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## AB2.2 Solut | 305738

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.