

## AB2.2 ląstelės | 305738

## Bendra informacija

## Description

Ląstelių linija AB2.2 yra plačiai naudojama pelių embrioninių kamieninių (ES) ląstelių linija, gauta iš 129S7 (taip pat žinoma kaip 129P2/OlaHsd) pelių padermės. Dėl didelio gebėjimo plėstis in vitro ir atlikti genetines manipuliacijas, ji atlieka svarbų vaidmenį genų tikslinėje atrankoje ir transgeninių pelių kūrime. AB2.2 ląstelės yra pluripotentinės, gali būti naudojamos visuose gemaliniuose sluoksniuose ir yra labai svarbios gaminant gemalinės linijos reikalavimus atitinkančias chimeras. Tačiau, kaip ir daugelis kitų ES ląstelių linijų, palaikomų ilgesnį laiką, AB2.2 yra linkusios į chromosomų nestabilumą, ypač į aneuploidiją, susijusią su 8 chromosoma.

Atlikus AB2.2 ir jos sublinijų citogenetinę analizę, nustatyta, kad chromosomų anomalijų dažnumas yra didelis, ypač dažnos yra mozaikinė ir grynoji trisomija 8. Viename tyrime AB2.2 buvo nustatytas mozaikinis kariotipas, apimantis 8 ir Y chromosomų padidėjimą, įskaitant tokias konfigūracijas kaip 42,XY,+Y,+8 / 41,XY,+Y / 40,XY. Tarp jos sublinijų buvo nustatyta papildomų kariotipinių anomalijų, tokių kaip dvigubos trisomijos, apimančios 8 ir 11 chromosomas, ir sudėtingos išvestinės chromosomos, atsirandančios dėl nesubalansuotų translokacijų, apimančių 8 chromosomą. Šios struktūrinės ir skaitmeninės aberacijos yra susijusios su mažesniu gemalinės linijos perdavimo efektyvumu, o jų buvimas komplikuoja genotipo ir fenotipo santykių aiškinimą chimeriniuose gyvūnuose.

Atsižvelgiant į genetinį foną ir polinkį į chromosominį nestabilumą, AB2.2 išlieka galinga pelių genetikos priemonė, tačiau reikia kruopščios kokybės kontrolės. Prieš atliekant blastocistos injekciją, rekomenduojama atlikti įprastinę kariotipo patikrą, įskaitant G-bandingą ir FISH, kad būtų užtikrintas chromosomų vientisumas, būtinas patikimam giminės perdavimui ir tikslioms fenotipinėms analizėms.

**Organism** Pelė

**Tissue** Blastocista

**Applications** Kamieninių ląstelių tyrimai

## Charakteristikos

**Age** Embrionas

**Gender** Vyras

**Cell type** Embrioninės kamieninės ląstelės

**Growth properties** Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** AB2.2 (Cytion katalogo numeris 305738)

## AB2.2 ląstelės | 305738

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_C261

### Biomolekuliniai duomenys

**Mutational profile**

### Tvarkymas

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

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## AB2.2 ląstelės | 305738

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## AB2.2 ląstelės | 305738

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.