Product sheet

Κύτταρα AML12 | 300643

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα AML12, επίσης γνωστά ως κύτταρα Alpha Mouse Liver 12, είναι μια μη καρκινική επιθηλιακή κυτταρική σειρά που προέρχεται από το ήπαρ ενός διαγονιδιακού ποντικού. Τα κύτταρα αυτά αναπτύχθηκαν αρχικά για να παρέχουν ένα κατάλληλο in vitro μοντέλο για τη μελέτη της λειτουργίας των ηπατοκυττάρων και της βιολογίας του ήπατος του ενήλικου ποντικού. Τα κύτταρα AML12 εκφράζουν χαρακτηριστικά τυπικά των διαφοροποιημένων ηπατοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής αλβουμίνης, τρανσφερρίνης και άλλων ειδικών για το ήπαρ πρωτεϊνών, καθιστώντας τα ανεκτίμητη πηγή για την έρευνα στην τοξικολογία, τον μεταβολισμό των φαρμάκων και τις ηπατικές νόσους. Η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε από ηπατοκύτταρα που απομονώθηκαν από ποντίκι που έφερε διαγονίδιο για τον ανθρώπινο μετασχηματιστικό αυξητικό παράγοντα άλφα (TGF-άλφα), υπό τον έλεγχο του υποκινητή της μεταλλοθειονίνης-ι ποντικού. Αυτή η γενετική μεταβολή συμβάλλει στην αθανασία των κυττάρων χωρίς να διαταράσσεται η διαφοροποιημένη κατάστασή τους. Τα κύτταρα AML12 διατηρούν σταθερό φαινότυπο και καρυότυπο υπό τυπικές συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας, οι οποίες περιλαμβάνουν μια μοναδική απαίτηση για δεξαμεθαζόνη και ινσουλίνη-τρανσφερρίνη-σελήνιο στο μέσο ανάπτυξης για την προώθηση του πολλαπλασιασμού και τη διατήρηση των ειδικών για τα ηπατοκύτταρα λειτουργιών.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Ήπαρ
Applications	τρισδιάστατη κυτταρική καλλιέργεια, διαλογή υψηλής απόδοσης, Τοξικολογία
Synonyms	AML-12, AML 12, Άλφα ήπαρ ποντικού 12

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	CD-1 MT42 διαγονιδιακό
Age	3 μήνες
Gender	Άντρας
Morphology	Επιθηλιακό
Cell type	Ηπατοκύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα AML12 | 300643

Citation	AML12 (αριθμός καταλόγου Cytion 300643)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0140
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά ηπατοκυττάρων ποντικού (AML12) περιέχει ένα ανθρώπινο τρανσγονίδιο TGF-α που εισήχθη με μεταμόσχευση, επιτρέποντας τη διεξαγωγή μελετών σηματοδότησης που εξαρτώνται από αυξητικούς παράγοντες. Το ένθετο είναι σταθερά ενσωματωμένο στα ηπατοκυτταρικά κύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Products	Τα κύτταρα εκφράζουν υψηλά επίπεδα ανθρώπινου TGF άλφα και χαμηλότερα επίπεδα TGF άλφα ποντικού.

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 10 μικρογραμμάρια/ml ινσουλίνης, 5,5 μικρογραμμάρια/ml τρανσφερρίνης, 5 ng/ml σεληνίου, 40 ng/ml δεξαμεθαζόνης
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα AML12 | 300643

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα AML12 | 300643

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.