

AML12 rakud | 300643

Üldine teave

Description

AML12 rakud, mida tuntakse ka kui Alpha Mouse Liver 12 rakke, on transgeense hiire maksast saadud mittekasvajalik epiteelirakuliin. Need rakud töötati algselt välja selleks, et pakkuda sobivat in vitro mudelit täiskasvanud hiire hepatotsüütide funktsiooni ja maksa bioloogia uurimiseks. AML12 rakud väljendavad diferentseeritud hepatotsüütidele iseloomulikke omadusi, sealhulgas albumiini, transferrini ja teiste maksaspetsiifiliste valkude tootmist, mis teeb neist hindamatu ressursi toksikoloogia, ravimite metabolismi ja maksahaiguste uurimisel.

Rakuliin loodi hiirest isoleeritud hepatotsüütidest, mis sisaldasid inimese transgeeni transformeeriva kasvufaktori alfa (TGF-alfa) jaoks, mis on kontrollitud hiire metallotionein-I promotori abil. See geneetiline muudatus aitab kaasa rakkude immortaliseerimisele ilma nende diferentseeritud seisundit häirimata. AML12 rakud säilitavad stabiilse fenotüübi ja karüotüübi standardsetel rakukultuuritingimustel, mis hõlmab ainulaadset vajadust deksametasooni ja insuliin-transferrin-seleeniumi järele kasvukeskkonnas, et soodustada proliferatsiooni ja säilitada hepatotsüütidele omaseid funktsioone.

Organism Hiir

Tissue Maksa

Applications 3D rakukultuur, kõrgläbivaatamine, toksikoloogia, kõrge läbilaskevõimega sõelumine

Synonyms AML-12, AML 12, Alpha Mouse Maksa 12

Omadused

Breed/Subspecies CD-1 MT42 transgeenne

Age 3 kuud

Gender Mees

Morphology Epiteel

Cell type Hepatotsüüdid

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation AML12 (Cytioni katalooginumber 300643)

AML12 rakud | 300643

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0140**GMO Status** GMO-S1: See hiire hepatotsüütide rakuliin (AML12) sisaldab transfektsiooni teel sisse viidud inimese TGF- α transgeeni, mis võimaldab teha kasvufaktorist sõltuvaid signaalimisuuringuid. Insert on stabiilselt integreeritud hepatotsüütidesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Products** Rakud ekspresseerivad suurel määral inimese TGF alfa ja madalamal määral hiire TGF alfa.**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 10 mikrogrammi/ml insuliini, 5,5 mikrogrammi/ml transferriini, 5 ng/ml seleeni, 40 ng/ml deksametasooni**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

AML12 rakud | 300643

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

AML12 rakud | 300643

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.