

AML12-solut | 300643

Yleisiä tietoja

Description

AML12-solut, jotka tunnetaan myös nimellä Alpha Mouse Liver 12 -solut, ovat ei-kasvainperäinen epiteelisolulinja, joka on peräisin siirtogeenisen hiiren maksasta. Nämä solut kehitettiin alun perin tarjoamaan sopiva in vitro -malli aikuisen hiiren hepatosyyttien toiminnan ja maksan biologian tutkimiseen. AML12-solut ilmentävät erilaistuneille hepatosyyteille tyypillisiä ominaisuuksia, kuten albumiinin, transferrinin ja muiden maksaspesifisten proteiinien tuotantoa, mikä tekee niistä korvaamattoman arvokkaan resurssin toksikologian, lääkeaineenvaihdunnan ja maksasairauksien tutkimukseen.

Solulinja perustettiin hiirestä eristetyistä hepatosyyteistä, joissa oli ihmisen transformoivan kasvutekijä alfan (TGF-alfa) siirtogeeni hiiren metallotionein-I-promoottorin ohjaamana. Tämä geneettinen muutos edistää solujen kuolemattomuutta häiritsemättä niiden erilaistunutta tilaa. AML12-solut säilyttävät vakaan fenotyypin ja karyotyypin tavanomaisissa soluviljelyolosuhteissa, joihin sisältyy ainutlaatuinen vaatimus deksametasonin ja insuliini-transferrini-seleniumin käytöstä kasvualustassa proliferaation edistämiseksi ja hepatosyyttispesifisten toimintojen ylläpitämiseksi.

Organism

Hiiri

Tissue

Maksa

Applications

3D-soluviljely, Suuren läpimenon seulonta, Toksikologia

Synonyms

AML-12, AML 12, Alpha hiiren maksa 12

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

CD-1 MT42 siirtogeeninen

Age

3 kuukautta

Gender

Mies

Morphology

Epiteeli

Cell type

Hepatosyytti

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

AML12 (Cytionin luettelonumero 300643)

AML12-solut | 300643

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0140**GMO Status** GMO-S1: Tämä hiiren hepatosyyttisoluvuiva (AML12) sisältää transfektiolla tuotetun ihmisen TGF- α -transgeenin, joka mahdollistaa kasvutekijästä riippuvien signaalien tutkimisen. Insert on integroitunut vakaasti hepatosyyttisoluuun. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyylitiedot****Products** Solut ilmentävät suuria määriä ihmisen TGF-alfaa ja pienempiä määriä hiiren TGF-alfaa.**Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 10 mikrogrammaa/ml insuliinia, 5,5 mikrogrammaa/ml transferriiniä, 5 ng/ml seleeniä, 40 ng/ml deksametasonia**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

AML12-solut | 300643

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 % 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.

AML12-solut | 300643

**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 määrittäyksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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