

**Cellule AML12 | 300643****Informazioni generali****Description**

Le cellule AML12, note anche come cellule Alpha Mouse Liver 12, sono una linea cellulare epiteliale non tumorale derivata dal fegato di un topo transgenico. Queste cellule sono state inizialmente sviluppate per fornire un modello in vitro adatto allo studio della funzione degli epatociti e della biologia del fegato del topo adulto. Le cellule AML12 esprimono caratteristiche tipiche degli epatociti differenziati, tra cui la produzione di albumina, transferrina e altre proteine specifiche del fegato, che le rendono una risorsa preziosa per la ricerca in tossicologia, metabolismo dei farmaci e malattie epatiche.

La linea cellulare è stata creata a partire da epatociti isolati da un topo che ospitava un transgene per il fattore di crescita trasformante alfa (TGF-alfa) umano, sotto il controllo del promotore della metallothioneina-I del topo. Questa alterazione genetica contribuisce all'immortalizzazione delle cellule senza interrompere il loro stato differenziato. Le cellule AML12 mantengono un fenotipo e un cariotipo stabili in condizioni di coltura cellulare standard, che includono un requisito unico per il desametasone e l'insulina-transferrina-selenio nel mezzo di crescita per promuovere la proliferazione e mantenere le funzioni specifiche degli epatociti.

**Organism** Mouse**Tissue** Fegato**Applications** coltura cellulare 3D, screening ad alta velocità, tossicologia**Synonyms** AML-12, AML 12, Alfa Mouse Liver 12**Caratteristiche****Breed/Subspecies** CD-1 MT42 transgenico**Age** 3 mesi**Gender** Uomo**Morphology** Epiteliale**Cell type** Epatocita**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** AML12 (numero di catalogo Cytion 300643)

**Cellule AML12 | 300643****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0140**GMO Status** GMO-S1: questa linea cellulare di epatociti murini (AML12) contiene un transgene TGF- $\alpha$  umano introdotto mediante trasfezione, che consente studi di segnalazione dipendenti dal fattore di crescita. L'inserto è integrato in modo stabile nelle cellule epatocitiche. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Products** Le cellule esprimono alti livelli di TGF alfa umano e bassi livelli di TGF alfa di topo.**Manipolazione****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO<sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820400a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 10 microgrammi/mL di insulina, 5,5 microgrammi/mL di transferrina, 5 ng/mL di selenio, 40 ng/mL di desametasone**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospingere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule AML12 | 300643

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule AML12 | 300643

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.