

AML12 ląstelės | 300643

Bendra informacija

Description

AML12 ląstelės, dar vadinamos Alpha Mouse Liver 12 ląstelėmis, yra netumorigeninė epitelinių ląstelių linija, gauta iš transgeninės pelės kepenų. Šios ląstelės iš pradžių buvo sukurtos siekiant sukurti tinkamą in vitro modelį suaugusios pelės hepatocitų funkcijai ir kepenų biologijai tirti. AML12 ląstelės pasižymi diferencijuotiems hepatocitams būdingomis savybėmis, įskaitant albumino, transferino ir kitų kepenims būdingų baltymų gamybą, todėl jos yra neįkainojamas šaltinis toksikologijos, vaistų metabolizmo ir kepenų ligų tyrimams.

Ląstelių linija buvo sukurta iš hepatocitų, išskirtų iš pelės, turinčios žmogaus transformuojančio augimo faktoriaus alfa (TGF-alfa) transgeną, kontroliuojamą pelės metalioneino-I promotoriaus. Šis genetinis pokytis padeda ląstelėms tapti nemirtingomis, nesutrikdydamas jų diferencijuotos būsenos. AML12 ląstelės išlaiko stabilų fenotipą ir kariotipą standartinėmis ląstelių kultūros sąlygomis, kurioms būdingas unikalus deksametazono ir insulino-transferino-seleno reikalavimas augimo terpėje, kad būtų skatinama proliferacija ir palaikomos hepatocitams būdingos funkcijos.

Organism Pelė

Tissue Kepenys

Applications 3D ląstelių kultūros, didelio našumo atranka, toksikologija

Synonyms AML-12, AML 12, Alpha Mouse Liver 12

Charakteristikos

Breed/Subspecies CD-1 MT42 transgeninis

Age 3 mėnesiai

Gender Vyras

Morphology Epitelis

Cell type Hepatocitai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation AML12 (Cytion katalogo numeris 300643)

AML12 ląstelės | 300643

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0140**GMO Status** GMO-S1: Ši pelių hepatocitų ląstelių linija (AML12) turi žmogaus TGF- α transgeną, įterptą transfekcijos būdu, leidžiantį atlikti augimo faktorių priklausomų signalų tyrimus. Įterptas genas yra stabiliai integruotas į hepatocitų ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Products** Ląstelės išreiškia daug žmogaus TGF alfa ir mažiau pelės TGF alfa.**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 10 mikrogramų/ml insulino, 5,5 mikrogramo/ml transferino, 5 ng/ml seleno, 40 ng/ml deksametazono**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**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.

AML12 ląstelės | 300643

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°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°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°C , 5 % 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°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°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

AML12 ląstelės | 300643

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.