

## AML12 šūnas | 300643

## Vispārīga informācija

## Description

AML12 šūnas, pazīstamas arī kā Alpha Mouse Liver 12 šūnas, ir epitēlija šūnu līnija, kas nav audzēja epitēlija šūnu līnija, kas iegūta no transgēno peļu aknām. Šīs šūnas sākotnēji tika izstrādātas, lai nodrošinātu piemērotu in vitro modeli pieaugušas peles hepatocītu funkcijas un aknu bioloģijas izpētei. AML12 šūnām piemīt diferencētiem hepatocītiem raksturīgas īpašības, tostarp albumīna, transferīna un citu aknām specifisku olbaltumvielu ražošana, tāpēc tās ir nenovērtējams resurss toksikoloģijas, zāļu metabolisma un aknu slimību pētījumiem.

Šūnu līnija tika izveidota no hepatocītiem, kas izolēti no peles, kurā ir cilvēka transformējošā augšanas faktora alfa (TGF-alfa) transgēns, ko kontrolē peles metaltioneīna-I promotors. Šī ģenētiskā izmaiņa veicina šūnu imortalizāciju, neizjaucot to diferencēto stāvokli. AML12 šūnas saglabā stabilu fenotipu un kariotipu standarta šūnu kultūras apstākļos, kas ietver unikālu prasību pēc deksametazona un insulīna-transferīna-selēna augšanas vidē, lai veicinātu proliferāciju un saglabātu hepatocītiem specifiskas funkcijas.

**Organism** Pele

**Tissue** Aknas

**Applications** 3D šūnu kultūras, augstas veiktspējas skrīnings, toksikoloģija

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

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** CD-1 MT42 transgēnu

**Age** 3 mēneši

**Gender** Vīrieši

**Morphology** Epitēlija

**Cell type** Hepatocīti

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** AML12 (Cytion kataloga numurs 300643)

## AML12 šūnas | 300643

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0140**GMO Status** GMO-S1: Šī peles hepatocītu šūnu līnija (AML12) satur cilvēka TGF- $\alpha$  transgēnu, kas ievadīts ar transfekciju, ļaujot veikt augšanas faktoru atkarīgus signālu pētījumus. Ievietotais transgēns ir stabili integrēts hepatocītu šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Products** Šūnās ir augsts cilvēka TGF alfa līmenis un zemāks peles TGF alfa līmenis.**Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS, 10 mikrogramiem/ml insulīna, 5,5 mikrogramiem/ml transferīna, 5 ng/ml selēna, 40 ng/ml deksametazona**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## AML12 šūnas | 300643

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## AML12 šūnas | 300643

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.