

Komórki AML12 | 300643**Informacje ogólne****Description**

Komórki AML12, znane również jako komórki Alpha Mouse Liver 12, to nienowotworowa linia komórek nabłonkowych pochodząca z wątroby transgenicznej myszy. Komórki te zostały początkowo opracowane w celu zapewnienia odpowiedniego modelu in vitro do badania funkcji hepatocytów i biologii wątroby dorosłej myszy. Komórki AML12 wykazują cechy typowe dla zróżnicowanych hepatocytów, w tym produkcję albuminy, transferyny i innych białek specyficznych dla wątroby, co czyni je nieocenionym źródłem do badań nad toksykologią, metabolizmem leków i chorobami wątroby.

Linia komórkowa została utworzona z hepatocytów wyizolowanych od myszy, u której zastosowano transgen dla ludzkiego transformującego czynnika wzrostu alfa (TGF-alfa), pod kontrolą mysiego promotora metalotioneiny-I. Ta zmiana genetyczna przyczynia się do unieśmiertelnienia komórek bez zakłócania ich zróżnicowanego stanu. Komórki AML12 utrzymują stabilny fenotyp i kariotyp w standardowych warunkach hodowli komórkowej, które obejmują unikalne zapotrzebowanie na deksametazon i insulinę-transferynę-selenium w pożywce wzrostowej w celu promowania proliferacji i utrzymania funkcji specyficznych dla hepatocytów.

Organism

Mysz

Tissue

Wątroba

Applications

toksykologia, Hodowla komórkowa 3D, Wysokowydajne badania przesiewowe

Synonyms

AML-12, AML 12, Alpha Mouse Liver 12

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

Transgeniczny CD-1 MT42

Age

3 miesiące

Gender

Męczyzna

Morphology

Nabłonek

Cell type

Hepatocyt

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki AML12 | 300643

Citation	AML12 (numer katalogowy Cytion 300643)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0140
GMO Status	GMO-S1: Ta mysia linia komórek hepatocytów (AML12) zawiera ludzki transgen TGF- α wprowadzony poprzez transfekcję, umożliwiającą badania sygnalizacji zależnej od czynników wzrostu. Wstawka jest stabilnie zintegrowana z komórkami hepatocytów. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Products	Komórki wyrażają wysoki poziom ludzkiego TGF alfa i niższy poziom mysiego TGF alfa.
-----------------	---

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 10 mikrogramów/ml insuliny, 5,5 mikrograma/ml transferyny, 5 ng/ml selenu, 40 ng/ml deksametazonu
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki AML12 | 300643

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki AML12 | 300643

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.