

Células AML12 | 300643**Informações gerais****Description**

As células AML12, também conhecidas como células Alpha Mouse Liver 12, são uma linha de células epiteliais não tumorigênicas derivadas do fígado de um rato transgênico. Estas células foram inicialmente desenvolvidas para fornecer um modelo in vitro adequado para estudar a função dos hepatócitos e a biologia do fígado do ratinho adulto. As células AML12 expressam características típicas de hepatócitos diferenciados, incluindo a produção de albumina, transferrina e outras proteínas específicas do fígado, o que as torna um recurso inestimável para a investigação em toxicologia, metabolismo de medicamentos e doenças hepáticas.

A linha celular foi estabelecida a partir de hepatócitos isolados de um ratinho com um transgene para o fator de crescimento transformador humano alfa (TGF-alfa), sob o controlo do promotor da metalotioneína-I do ratinho. Esta alteração genética contribui para a imortalização das células sem perturbar o seu estado diferenciado. As células AML12 mantêm um fenótipo e um cariótipo estáveis em condições normais de cultura de células, o que inclui um requisito único de dexametasona e insulina-transferrina-selénio no meio de crescimento para promover a proliferação e manter as funções específicas dos hepatócitos.

Organism Rato**Tissue** Fígado**Applications** cultura de células 3D, Rastreo de elevado rendimento, Toxicologia**Synonyms** AML-12, AML 12, Fígado de Rato Alfa 12**Caraterísticas****Breed/Subspecies** Transgênico CD-1 MT42**Age** 3 meses**Gender** Masculino**Morphology** Epitelial**Cell type** Hepatócitos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** AML12 (número de catálogo Cytion 300643)

Células AML12 | 300643**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0140**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular de hepatócitos murinos (AML12) contém um transgene TGF- α humano introduzido por transfecção, permitindo estudos de sinalização dependentes de fatores de crescimento. A inserção está integrada de forma estável nas células hepatocíticas. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Products** As células expressam níveis elevados de TGF alfa humano e níveis mais baixos de TGF alfa de rato.**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 10 microgramas/mL de insulina, 5,5 microgramas/mL de transferrina, 5 ng/mL de selénio, 40 ng/mL de dexametasona**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células AML12 | 300643

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células AML12 | 300643

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.