

Buňky AtT-20 | 305161**Obecné informace****Description**

Buněčná linie AtT-20 je dobře charakterizovaná buněčná linie nádorů myší hypofýzy odvozená z buněk přední hypofýzy. Tyto buňky pocházejí z kmene myší známého jako AtT-20/D16v-F2 a používají se především ke studiu funkce a regulace hypofýzy, zejména se zaměřením na syntézu a sekreci adrenokortikotropního hormonu (ACTH). ACTH má zásadní význam pro funkci nadledvinek a je klíčovým hráčem v reakci na stres a regulaci metabolismu.

Buňky AtT-20 vykazují typické vlastnosti významné pro studium v neuroendokrinologii a farmakologii, jako je produkce a sekrece proopiomelanokortinu (POMC), prekurzorové molekuly pro ACTH. Buňky reagují na kortikotropin uvolňující hormon (CRH) a další hypotalamické hormony, což z nich činí vynikající model pro zkoumání osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA) in vitro. Kromě toho lze buňky AtT-20 použít ke zkoumání mechanismů zpracování, balení a vylučování peptidových hormonů vzhledem k jejich dobře definovaným sekrečním drahám.

Z hlediska aplikací byly buňky AtT-20 využity v různých studiích, včetně studií zaměřených na profily genové exprese za různých podmínek léčby, intracelulární signální dráhy zahrnující cAMP a účinky genetických modifikací na sekreci hormonů. Tyto buňky jsou také cenné při hodnocení farmakologických vlastností potenciálních kandidátů na léčiva zaměřená na složky osy HPA.

Organism

Myš

Tissue

Hypofýza

Disease

Novotvary myší hypofýzy

Synonyms

AtT20, AtT 20, ATT-20

Charakteristika**Breed/Subspecies**

LAF1

Morphology

Malé zaoblené buňky

Growth properties

Zavěšení

Regulační údaje**Citation**

AtT-20 (katalogové číslo Cytion 305161)

Biosafety level

1

Buňky AtT-20 | 305161

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_2300

Biomolekulární data

Protein expression Adrenokortikotropní hormon(Acth)

Zpracování

Culture Medium Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820608a)

Supplements Doplněte médium o 2,5 % FBS, 15 % koňského séra

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.

Split ratio 1:2 až 1:4

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky AtT-20 | 305161

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky AtT-20 | 305161

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.