

AtT-20-solut | 305161

Yleisiä tietoja

Description

AtT-20-solulinja on hyvin karakterisoitu hiiren aivolisäkekasvainsolulinja, joka on peräisin aivolisäkkeen etuosan soluista. Nämä solut ovat peräisin hiirikannasta, joka tunnetaan nimellä AtT-20/D16v-F2, ja niitä käytetään ensisijaisesti aivolisäkkeen toiminnan ja säätelyn tutkimiseen, erityisesti keskittyen adrenokortikotrooppisen hormonin (ACTH) synteesiin ja eritykseen. ACTH on elintärkeä lisämunuaisen toiminnalle, ja se on keskeinen tekijä stressivasteessa ja aineenvaihdunnan säätelyssä.

AtT-20-soluilla on tyypillisiä ominaisuuksia, jotka ovat merkittäviä neuroendokrinologian ja farmakologian tutkimusten kannalta, kuten ACTH:n esiasteen molekyylin pro-opiomelanokortiini (POMC) tuotanto ja erityy. Solut reagoivat kortikotropiinia vapauttavaan hormoniin (CRH) ja muihin hypotalamuksen hormoneihin, mikä tekee niistä erinomaisen mallin hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaisen (HPA) -akselin tutkimiseen in vitro. Lisäksi AtT-20-soluja voidaan käyttää peptidihormonien prosessoinnin, pakkaamisen ja erittymisen mekanismien tutkimiseen, koska niiden erittymisreitit ovat hyvin määritellyt.

Sovellusten osalta AtT-20-soluja on hyödynnetty erilaisissa tutkimuksissa, kuten niissä, joissa keskitytään geenien ilmentymisprofiileihin erilaisissa hoito-olosuhteissa, solunsisäisiin signaaleihin, joihin liittyy cAMP, ja geneettisten muutosten vaikutuksiin hormonien eritykseen. Nämä solut ovat myös arvokkaita arvioitaessa mahdollisten HPA-akselin komponentteihin kohdistuvien lääkeaihioiden farmakologisia ominaisuuksia.

Organism

Hiiri

Tissue

Aivolisäkkeen

Disease

Hiiren aivolisäkkeen kasvaimet

Synonyms

AtT20, AtT 20, ATT-20, ATT-20

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

LAF1

Morphology

Pienet pyöristetyt solut

Growth properties

Jousitus

Säätelytiedot

Citation

AtT-20 (Cytionin luettelonumero 305161)

Biosafety level

1

AtT-20-solut | 305161

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_2300

Biomolekyylitiedot

Protein expression Adrenokortikotrooppinen hormoni (Acth)

Käsittely

Culture Medium Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiinia, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820608a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 2,5 % FBS:llä, 15 % hevosseerumilla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $3 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

AtT-20-solut | 305161

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

AtT-20-solut | 305161

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.