

AtT-20 cellen | 305161**Algemene informatie****Description**

De AtT-20 cellijn is een goed gekarakteriseerde muizenhypofysetumorcellijn afgeleid van voorste hypofysecellen. Deze cellen zijn afkomstig van een muizenstam die bekend staat als AtT-20/D16v-F2, en worden voornamelijk gebruikt voor het bestuderen van de hypofysefunctie en -regulatie, waarbij de nadruk ligt op de synthese en secretie van adrenocorticotroop hormoon (ACTH). ACTH is cruciaal voor de bijnierfunctie en speelt een sleutelrol in de stressrespons en metabolische regulatie.

AtT-20 cellen vertonen typische kenmerken die van belang zijn voor studies in neuro-endocrinologie en farmacologie, zoals de productie en secretie van pro-opiomelanocortine (POMC), de precursormolecule voor ACTH. De cellen reageren op corticotropine-releasing hormoon (CRH) en andere hypothalamushormonen, waardoor ze een uitstekend model zijn om de hypothalamus-hypofyse-bijnieras (HPA-as) in vitro te onderzoeken. Bovendien kunnen AtT-20 cellen gebruikt worden om de mechanismen van de verwerking, verpakking en secretie van peptidehormonen te onderzoeken, gezien hun goed gedefinieerde secretieroutes.

In termen van toepassingen zijn AtT-20 cellen gebruikt in verschillende onderzoeken, waaronder onderzoeken naar genexpressieprofielen onder verschillende behandelingscondities, intracellulaire signaalroutes waarbij cAMP betrokken is en de effecten van genetische modificaties op hormoonsecretie. Deze cellen zijn ook waardevol bij de beoordeling van de farmacologische eigenschappen van potentiële kandidaat-geneesmiddelen die gericht zijn op componenten van de HPA-as.

Organism

Muis

Tissue

Hypofyse

Disease

Hypofyse neoplasma's bij de muis

Synonyms

AtT20, AtT 20, ATT-20

Kenmerken**Breed/Subspecies**

LAF1

Morphology

Kleine afgeronde cellen

Growth properties

Ophanging

Regelgevende gegevens**Citation**

AtT-20 (Cytion catalogusnummer 305161)

Biosafety level

1

AtT-20 cellen | 305161**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2300**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** Adrenocorticotroop hormoon (Acth)**Omgaan met****Culture Medium** Ham's F12K-medium, w: 2,0 mM L-glutamine, w: 2,0 mM natriumpyruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion-artikelnummer 820608a)**Supplements** Vul het medium aan met 2,5% FBS, 15% paardenserum**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Onderhoud de culturen door het medium periodiek toe te voegen of te vervangen. Start de culturen met een dichtheid van 5×10^5 cellen/ml en houd de celconcentratie binnen het bereik van 3×10^5 tot 1×10^6 cellen/ml voor een optimale groei.**Split ratio** 1:2 tot 1:4**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

AtT-20 cellen | 305161

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

AtT-20 cellen | 305161

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.