

AtT-20-celler | 305161**Generell informasjon****Description**

AtT-20-cellelinjen er en velkarakterisert hypofysetumorcellelinje fra mus avledet fra celler i hypofysens fremre del. Disse cellene stammer fra en musestamme kjent som AtT-20/D16v-F2, og brukes primært til studier av hypofysefunksjon og -regulering, med særlig fokus på syntese og utskillelse av adrenokortikotropisk hormon (ACTH). ACTH er avgjørende for binyrenes funksjon og spiller en nøkkelrolle i stressresponsen og metabolsk regulering.

AtT-20-celler har typiske egenskaper som er viktige for studier innen nevroendokrinologi og farmakologi, for eksempel produksjon og utskillelse av pro-opiomelanokortin (POMC), forløpermolekylet for ACTH. Cellene reagerer på kortikotropinfrigjørende hormon (CRH) og andre hypothalamiske hormoner, noe som gjør dem til en utmerket modell for utforskning av hypothalamus-hypofyse-binyrebark-aksen (HPA-aksen) in vitro. AtT-20-celler kan dessuten brukes til å undersøke mekanismene for prosessering, pakking og utskillelse av peptidhormoner, siden de har veldefinerte sekretoriske veier.

AtT-20-celler har blitt brukt i en rekke studier, blant annet studier som fokuserer på genuttryksprofiler under ulike behandlingsbetingelser, intracellulære signalveier som involverer cAMP, og effekten av genetiske modifikasjoner på hormonsekresjon. Disse cellene er også verdifulle i vurderingen av de farmakologiske egenskapene til potensielle legemiddelkandidater rettet mot komponenter i HPA-aksen.

Organism

Mus

Tissue

Hypofysen

Disease

Svulster i hypofysen hos mus

Synonyms

AtT20, AtT 20, ATT-20

Kjennetegn**Breed/Subspecies**

LAF1

Morphology

Små, avrundede celler

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data**Citation**

AtT-20 (Cytion katalognummer 305161)

Biosafety level

1

AtT-20-celler | 305161

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2300

Biomolekylære data

Protein expression Adrenokortikotropt hormon (Acth)

Håndtering

Culture Medium Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820608a)**Supplements** Suppler mediet med 2,5 % FBS, 15 % hesteserum**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

AtT-20-celler | 305161

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

AtT-20-celler | 305161

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.