

Komórki AtT-20 | 305161**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa AtT-20 jest dobrze scharakteryzowaną myszą linią komórkową guza przysadki mózgowej pochodzącą z komórek przedniego płata przysadki mózgowej. Komórki te pochodzą od szczepu myszy znanego jako AtT-20/D16v-F2 i są wykorzystywane głównie do badania funkcji i regulacji przysadki mózgowej, w szczególności koncentrując się na syntezie i wydzielaniu hormonu adrenokortykotropowego (ACTH). ACTH ma kluczowe znaczenie dla funkcjonowania nadnerczy i odgrywa kluczową rolę w odpowiedzi na stres i regulacji metabolicznej.

Komórki AtT-20 wykazują typowe cechy istotne dla badań w neuroendokrynologii i farmakologii, takie jak produkcja i wydzielanie pro-opiomelanokortyny (POMC), cząsteczki prekursorowej dla ACTH. Komórki te reagują na hormon uwalniający kortykotropinę (CRH) i inne hormony podwzgórza, co czyni je doskonałym modelem do badania osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) in vitro. Co więcej, komórki AtT-20 mogą być wykorzystywane do badania mechanizmów przetwarzania, pakowania i wydzielania hormonów peptydowych, biorąc pod uwagę ich dobrze zdefiniowane szlaki wydzielnicze.

Jeśli chodzi o zastosowania, komórki AtT-20 zostały wykorzystane w różnych badaniach, w tym tych skupiających się na profilach ekspresji genów w różnych warunkach leczenia, wewnątrzkomórkowych szlakach sygnałowych z udziałem cAMP oraz wpływie modyfikacji genetycznych na wydzielanie hormonów. Komórki te są również cenne w ocenie właściwości farmakologicznych potencjalnych kandydatów na leki ukierunkowane na składniki osi HPA.

Organism

Mysz

Tissue

Przysadka mózgowa

Disease

Nowotwory przysadki mózgowej u myszy

Synonyms

AtT20, AtT 20, ATT-20

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

LAF1

Morphology

Małe zaokrąglone komórki

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne**Citation**

AtT-20 (numer katalogowy Cytion 305161)

Komórki AtT-20 | 305161**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2300**Dane biomolekularne****Protein expression** Hormon adrenokortykotropowy (Acth)**Obsługa****Culture Medium** Pożywka Ham's F12K, w: 2,0 mM L-glutamina, w: 2,0 mM pirogronian sodu, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820608a)**Supplements** Uzpełnić pożywkę o 2,5% FBS, 15% surowicy końskiej**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki AtT-20 | 305161

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki AtT-20 | 305161

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.