

ATDC5 rakud | 305427

Üldine teave

Description

ATDC5 on hiire teratokartsinoomi rakkudest saadud hiirte kondrogeenne rakuliin, mida kasutatakse laialdaselt in vitro mudelina kondrogeeneesi ja kõhre arengu uurimiseks. See rakuliin läbib järjestikuse kondrogeense diferentseerumise, jäljendades in vivo protsesse, nagu rakkude kondenseerumine, varajaste kondrotsüütide markerite, nagu II tüüpi kollageen ja aggrekoon, ekspressioon ja üleminek hüpertroofseteks kondrotsüütideks, mida iseloomustab X-tüüpi kollageeni ekspressioon ja maatriksi mineraliseerumine. Kuna ATDC5 on võimeline tõhusalt prolifereerumisele ja diferentseerumisele teel paljunema, on see väärtuslik mudel skeleti arenguga seotud molekulaarsete mehhanismide, eriti endokondraalse luustumise uurimiseks.

ATDC5 rakke on laialdaselt kasutatud erinevate kasvufaktorite, hormoonide ja transkriptsioonifaktorite mõju uurimiseks kondrogeeneesile. Näiteks on näidatud, et transformeeriv kasvufaktor beeta (TGF- β) soodustab varajast kondrogeenset diferentseerumist, moduleerides rakuvälise maatriksi komponentide, nagu fibronektiin, ekspressiooni. Samamoodi mängivad luu morfogeneetilised valgud (BMP-d), eriti BMP-2, -4 ja -7, kriitilist rolli kondrotsüütide diferentseerumise eri etappide edendamisel ATDC5-s. Lisaks on näidatud, et transientsed retseptori potentsiaali vanilloid 4 (TRPV4) kanalite aktiveerimine nendes rakkudes koos hüalurooniga suurendab peamiste kondrogeensete markerite, nagu SOX9 ja Aggrecan, ekspressiooni, mis toetab veelgi nende kasulikkust kõhrekoetehnoloogilistes uuringutes.

See rakuliin on aidanud kaasa ka proteoomika uuringutele, näidates, et ATDC5 rakud suudavad sünteesida peamisi kõhre ekstratsellulaarse maatriksi (ECM) komponente, nagu aggrekoon ja II tüüpi kollageen, koos kõhre funktsioneerimiseks vajalike posttranslatiivsete modifikatsioonidega. Selle võime korrata ECM biosünteesi olulisi sündmusi muudab ATDC5 asendamatuks mudeliks kõhre moodustumise ja sellega seotud patoloogiate uurimisel.

Organism	Hiir
Tissue	Embrüo
Disease	Teratokartsinoom
Synonyms	ATDC-5

Omadused

Breed/Subspecies	129
Age	Embrüo
Gender	Mees
Morphology	Polügonaalne

ATDC5 rakud | 305427

Growth properties	Kinnipeetav
--------------------------	-------------

Regulatiivsed andmed

Citation	ATDC5 (Cytioni katalooginumber 305427)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada keskkonda 5% FBS-ga
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurikeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus Accutase'i lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37°C 5-10 minutit või kuni rakkude eraldumiseni. Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumad, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage Accutase'i inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kultuurinumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5% CO ₂ , ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.
---------------------	--

Seeding density	2 x 10 ⁴ rakku/cm ²
------------------------	---

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	--

ATDC5 rakud | 305427

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ATDC5 rakud | 305427

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.