

ATDC5-solut | 305427

Yleisiä tietoja

Description

ATDC5 on hiiren teratokarsinoomasoluista peräisin oleva hiiren kondrogeeninen solulinja, jota käytetään laajalti in vitro -mallina kondrogeenesin ja ruston kehityksen tutkimiseen. Tämä solulinja käy läpi peräkkäisen kondrogeenisen erilaistumisen, joka jäljittelee in vivo -prosesseja, kuten solujen tiivistymistä, varhaisten kondrosyyttisten merkkiaineiden, kuten tyypin II kollageenin ja aggregaatin, ilmentymistä ja siirtymistä hypertrofiseksi kondrosyyteiksi, joille on tunnusomaista tyypin X kollageenin ilmentyminen ja matriksin mineralisaatio. Koska ATDC5 kykenee lisääntymään ja erilaistumaan tehokkaasti, se toimii arvokkaana mallina luuston kehitykseen, erityisesti endokondraaliseen luutumiseen, liittyvien molekyylimekanismien tutkimisessa.

ATDC5-soluja on käytetty laajasti erilaisten kasvutekijöiden, hormonien ja transkriptiotekijöiden vaikutuksen tutkimiseen kondrogeeneisiin. Esimerkiksi transformoivan kasvutekijä-beetan (TGF- β) on osoitettu edistävän varhaista kondrogeenista erilaistumista muokkaamalla solunulkoisen matriisin komponenttien, kuten fibronektiinin, ilmentymistä. Vastaavasti luun morfogeneettisillä proteiineilla (BMP), erityisesti BMP-2, -4 ja -7, on ratkaiseva rooli kondrosyyttien erilaistumisen eri vaiheiden edistämisessä ATDC5:ssä. Lisäksi TRPV4-kanavien (transient receptor potential vanilloid 4) aktivoinnin näissä soluissa yhdessä hyaluronaanin kanssa on osoitettu lisäävän keskeisten kondrogeenisten merkkiaineiden, kuten SOX9:n ja aggregaatin, ilmentymistä, mikä tukee entisestään niiden käyttökelpoisuutta rustokudostutkimuksissa.

Tämä solulinja on ollut tärkeä myös proteomiikan tutkimuksessa, joka on osoittanut, että ATDC5-solut pystyvät syntetisoimaan tärkeimpiä ruston solunulkoisen matriksin (ECM) komponentteja, kuten aggregaatin ja tyypin II kollageenin, sekä asianmukaisia posttranslacionaalisia modifikaatioita, joita tarvitaan ruston toiminnassa. ATDC5-solujen kyky toistaa ratkaisevia ECM:n biosynteesitapahtumia tekee niistä välttämättömän mallin ruston muodostumisen ja siihen liittyvien patologioiden tutkimiseen.

Organism	Hiiri
Tissue	Alkio
Disease	Teratokarsinooma
Synonyms	ATDC-5

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	129
Age	Alkio
Gender	Mies
Morphology	Polygonal

ATDC5-solut | 305427

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	ATDC5 (Cytionin luettelonumero 305427)
-----------------	--

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

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

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Täydennetään elatusainetta 5 %:lla FBS:llä
--------------------	--

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

Subculturing	Rutiininomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään kasvustastian koon mukaan sopiva määrä Accutase-liuosta (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa 5-10 minuuttia tai kunnes solut irtoavat. Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täydellistä elatusainetta Accutaasin inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvustastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus ⁵ %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.
---------------------	--

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

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

ATDC5-solut | 305427

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, 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 $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

ATDC5-solut | 305427

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 / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

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

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