

Клетки ATDC5 | 305427

Обща информация

Description

ATDC5 е миша хондрогенна клетъчна линия, получена от миши тератокарциномни клетки, и се използва широко като *in vitro* модел за изследване на хондрогенезата и развитието на хрущяла. Тази клетъчна линия претърпява последователна хондрогенна диференциация, имитирайки процеси *in vivo*, като например клетъчна кондензация, експресия на ранни хондроцитни маркери като колаген тип II и агрекан, и преход към хипертрофични хондроцити, белязани от експресия на колаген тип X и минерализация на матрикса. Поради способността си да пролиферира и диференцира ефикасно, ATDC5 служи като ценен модел за изследване на молекулярните механизми, свързани със скелетното развитие, особено с ендохондралната осификация.

Клетките ATDC5 са широко използвани за изследване на влиянието на различни растежни фактори, хормони и транскрипционни фактори върху хондрогенезата. Например, доказано е, че трансформиращият растежен фактор-бета (TGF- β) насърчава ранната хондрогенна диференциация чрез модулиране на експресията на компоненти на извънклетъчния матрикс като фибронектин. По подобен начин костните морфогенетични протеини (КМП), по-специално КМП-2, -4 и -7, играят решаваща роля за насърчаване на различните етапи на хондроцитната диференциация в ATDC5. Освен това е доказано, че активирането на каналите на преходния рецепторен потенциал ванилоид 4 (TRPV4) в тези клетки, в комбинация с хиалурон, засилва експресията на ключови хондрогенни маркери като SOX9 и Aggrecan, което допълнително подкрепя тяхната полезност в изследванията на хрущялното тъканно инженерство.

Тази клетъчна линия е от съществено значение и за изследванията в областта на протеомиката, като показва, че клетките ATDC5 могат да синтезират основните компоненти на хрущялния екстрацелуларен матрикс (ЕСМ) като агрекан и колаген тип II, заедно с подходящите посттранслационни модификации, необходими за функционирането на хрущяла. Способността на ATDC5 да пресъздава ключови събития от биосинтезата на ЕСМ я превръща в незаменим модел за изучаване на формирането на хрущяла и свързаните с него патологии.

Organism

Мишка

Tissue

Ембрион

Disease

Тератокарцином

Synonyms

ATDC-5

Характеристики

Breed/Subspecies

129

Age

Ембрион

Gender

Мъжки

Клетки ATDC5 | 305427

Morphology Многоъгълни

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation ATDC5 (каталожен номер 305427 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 5% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на Accutase в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C за 5-10 минути или докато клетките се отделят. Наблюдавайте отделянето под микроскоп и ако е необходимо, леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, добавете пълна среда, за да инактивирате Accutase, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5% CO₂, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.

Seeding density 2×10^4 клетки /cm²

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки ATDC5 | 305427

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки ATDC5 | 305427

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.