

Buňky ATDC5 | 305427**Obecné informace****Description**

ATDC5 je myší chondrogenní buněčná linie odvozená z myších teratokarcinomových buněk a je široce používána jako in vitro model pro studium chondrogenese a vývoje chrupavky. Tato buněčná linie prochází postupnou chondrogenní diferenciací, která napodobuje procesy in vivo, jako je buněčná kondenzace, exprese časných chondrocytárních markerů, jako je kolagen typu II a agrekan, a přechod k hypertrofickým chondrocytům, vyznačujícím se expresí kolagenu typu X a mineralizací matrix. Díky své schopnosti efektivně proliferovat a diferencovat slouží ATDC5 jako cenný model pro zkoumání molekulárních mechanismů souvisejících s vývojem skeletu, zejména s endochondrální osifikací.

Buňky ATDC5 byly hojně využívány ke studiu vlivu různých růstových faktorů, hormonů a transkripčních faktorů na chondrogenese. Bylo například prokázáno, že transformující růstový faktor beta (TGF- β) podporuje časnou chondrogenní diferenciaci modulací exprese složek extracelulární matrix, jako je fibronectin. Podobně kostní morfogenetické proteiny (BMP), zejména BMP-2, -4 a -7, hrají rozhodující roli při podpoře různých fází diferenciaci chondrocytů v ATDC5. Navíc bylo prokázáno, že aktivace kanálů transientního receptorového potenciálu vaniloidu 4 (TRPV4) v těchto buňkách v kombinaci s hyaluronanem zvyšuje expresi klíčových chondrogenních markerů, jako jsou SOX9 a Aggrecan, což dále podporuje jejich užitečnost ve studiích tkáňového inženýrství chrupavky.

Tato buněčná linie se rovněž významně podílela na proteomickém výzkumu, který ukázal, že buňky ATDC5 mohou syntetizovat hlavní složky extracelulární matrix (ECM) chrupavky, jako je agrekan a kolagen typu II, spolu se správnými posttranslačními modifikacemi potřebnými pro funkci chrupavky. Schopnost rekapitulovat klíčové události biosyntézy ECM činí z ATDC5 nepostradatelný model pro studium tvorby chrupavky a souvisejících patologií.

Organism

Myš

Tissue

Embrya

Disease

Teratokarcinom

Metastatic site

Neplatí (odvozeno z embryonálního teratokarcinomu myši; nemetastatický model)

Applications

Výzkum chondrogenese; vývoj chrupavky a endochondrální osifikace; diferenciaci chondrocytů (kolagen typu II, agrekan, exprese SOX9); signalizace BMP-2/-4/-7 a TGF- β v chondrocytech; modelování osteoartrózy; tkáňové inženýrství chrupavky; biosyntéza proteoglykanů; biologie TRPV4 kanálů v chrupavce

Synonyms

ATDC-5

Charakteristika**Breed/Subspecies**

129

Age

Embrya

Buňky ATDC5 | 305427

Gender	Muži
Morphology	Polygonální
Cell type	Prekurzorové buňky chondrocytů
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	ATDC5 (katalogové číslo Cytion 305427)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0225
GMO Status	Bez genetické modifikace; chondrogenní buněčná linie odvozená z teratokarcinomu myšního divokého typu

Biomolekulární data**Zpracování**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte příslušný objem roztoku Accutase podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C po dobu 5 až 10 minut nebo dokud se buňky neoddělí. Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci akutázy, jemně resuspendujte buňky a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % _{CO2} a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.

Buňky ATDC5 | 305427**Seeding density** 2×10^4 buněk/cm²**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný

Buňky ATDC5 | 305427

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.