

ATDC5-celler | 305427

Generel information

Description

ATDC5 er en murin kondrogen cellelinje, der stammer fra teratokarcinomceller fra mus, og den bruges i vid udstrækning som en in vitro-model til undersøgelse af kondrogenese og bruskudvikling. Denne cellelinje gennemgår sekventiel kondrogen differentiering, der efterligner in vivo-processer som cellulær kondensering, udtryk for tidlige kondrocytiske markører som type II-kollagen og aggrecan og overgangen til hypertrofiske kondrocytter, der er præget af udtryk for type X-kollagen og matrixmineralisering. På grund af sin evne til at sprede sig og differentiere sig effektivt fungerer ATDC5 som en værdifuld model til udforskning af molekylære mekanismer i forbindelse med skeletudvikling, især endokondral ossifikation.

ATDC5-celler er i vid udstrækning blevet brugt til at undersøge indflydelsen af forskellige vækstfaktorer, hormoner og transkriptionsfaktorer på chondrogenese. For eksempel har det vist sig, at transformerende vækstfaktor-beta (TGF- β) fremmer tidlig chondrogen differentiering ved at modulere udtrykket af ekstracellulære matrixkomponenter som fibronectin. På samme måde spiller knoglemorfogenetiske proteiner (BMP'er), især BMP-2, -4 og -7, en afgørende rolle for at fremme forskellige stadier af kondrocytdifferentiering i ATDC5. Desuden har aktiveringen af TRPV4-kanaler (transient receptor potential vanilloid 4) i disse celler, kombineret med hyaluronan, vist sig at øge udtrykket af vigtige kondrogene markører som SOX9 og Aggrecan, hvilket yderligere understøtter deres anvendelighed i undersøgelser af bruskvæsteknik.

Denne cellelinje har også været medvirkende til proteomforskning, der viser, at ATDC5-celler kan syntetisere vigtige komponenter i bruskens ekstracellulære matrix (ECM) som aggrecan og type II-kollagen sammen med de korrekte posttranslationelle modifikationer, der er nødvendige for bruskens funktion. Dens evne til at rekapitulere vigtige ECM-biosyntesehændelser gør ATDC5 til en uundværlig model til undersøgelse af bruskdannelse og relaterede patologier.

Organism	Mus
Tissue	Embryo
Disease	Teratokarcinom
Synonyms	ATDC-5

Karakteristika

Breed/Subspecies	129
Age	Embryo
Gender	Mand
Morphology	Polygonal

ATDC5-celler | 305427

Growth properties	Vedhæftende
--------------------------	-------------

Regulatoriske data

Citation	ATDC5 (Cytion katalognummer 305427)
-----------------	-------------------------------------

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

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

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 5% FBS
--------------------	---------------------------

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

Subculturing	Til rutinemæssig adhærent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmedium fra de adhærente celler, og vask dem med PBS for at fjerne eventuelt resterende medium. Efter aspiration af PBS tilsættes den passende mængde Accutase-opløsning baseret på kulturbeholderens størrelse (f.eks. 1 ml til en T25-kolbe, 3 ml til en T75-kolbe), og der inkuberes ved stuetemperatur eller 37 °C i 5-10 minutter, eller indtil cellerne løsner sig. Overvåg løsrivelsen under et mikroskop, og bank forsigtigt på beholderen, hvis det er nødvendigt for at frigøre cellerne. Når de er løsnet, tilsættes komplet medium for at inaktivere Accutase, cellerne resuspenderes forsigtigt, og en alikvot del af celled suspensionen overføres til en ny kulturbeholder, der indeholder frisk medium. Anbring beholderen i en inkubator, der er indstillet til 37 °C med 5% _{CO₂} , og skift mediet hver 2-3 dag.
---------------------	--

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

Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.
----------------------	---

ATDC5-celler | 305427

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

ATDC5-celler | 305427

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.