

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 molekulære 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 bruskvævsteknik.

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-biosynteseændelser gør ATDC5 til en uundværlig model til undersøgelse af bruskdannelse og relaterede patologier.

Organism

Mus

Tissue

Embryo

Disease

Teratokarcinom

Metastatic site

Ikke relevant (afledt af embryonalt teratokarcinom hos mus; ikke-metastatisk model)

Applications

Forskning i kondrogenese; bruskudvikling og endokondral ossifikation; kondrocytdifferentiering (type II-kollagen, aggrecan, SOX9-ekspression); BMP-2/-4/-7- og TGF- β -signalering i chondrocytter; modellering af slidgigt; vævsingeniørarbejde med brusk; proteoglycanbiosyntese; TRPV4-kanalbiologi i brusk

Synonyms

ATDC-5

Karakteristika

Breed/Subspecies

129

Age

Embryo

ATDC5-celler | 305427

| | |
|--------------------------|----------------------------|
| Gender | Mand |
| Morphology | Polygonal |
| Cell type | Forstadier til bruskceller |
| Growth properties | Vedhæftende |

Regulatoriske data

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | ATDC5 (Cytion katalognummer 305427) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10090 |
| CellosaurusAccession | CVCL_0225 |
| GMO Status | Ingen genetisk modifikation; kondrogen cellelinje afledt af vildtype-teratokarcinom hos mus |

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.

ATDC5-celler | 305427

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

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 kryo-induceret stress.

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 °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 °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 kryoviolet 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 x 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°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

Flask Coating Ingen

ATDC5-celler | 305427

Freezing Procedure

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

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.