

Κύτταρα ATDC5 | 305427

Γενικές πληροφορίες

Description

Το ATDC5 είναι μια χονδρογενής κυτταρική σειρά ποντικού που προέρχεται από τερατοκαρκινωματικά κύτταρα ποντικού και χρησιμοποιείται ευρέως ως *in vitro* μοντέλο για τη μελέτη της χονδρογένεσης και της ανάπτυξης του χόνδρου. Αυτή η κυτταρική σειρά υφίσταται διαδοχική χονδρογονική διαφοροποίηση, μιμούμενη *in vivo* διεργασίες όπως η κυτταρική συμπίκνωση, η έκφραση πρώιμων χονδροκυτταρικών δεικτών όπως το κολλαγόνο τύπου II και η αγρεκάνη, και η μετάβαση σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα, που χαρακτηρίζεται από έκφραση κολλαγόνου τύπου X και ανοργανοποίηση της μήτρας. Λόγω της ικανότητάς του να πολλαπλασιάζεται και να διαφοροποιείται αποτελεσματικά, το ATDC5 χρησιμεύει ως πολύτιμο μοντέλο για τη διερεύνηση μοριακών μηχανισμών που σχετίζονται με τη σκελετική ανάπτυξη, ιδίως την ενδοχόνδρια οστεοποίηση.

Τα κύτταρα ATDC5 έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τη μελέτη της επίδρασης διαφόρων αυξητικών παραγόντων, ορμονών και μεταγραφικών παραγόντων στη χονδρογένεση. Για παράδειγμα, ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-β (TGF-β) έχει αποδειχθεί ότι προάγει την πρώιμη χονδρογενή διαφοροποίηση μέσω της διαμόρφωσης της έκφρασης συστατικών της εξωκυτταρικής μήτρας, όπως η φιμπρονεκτίνη. Ομοίως, οι μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (BMPs), ιδίως οι BMP-2, -4 και -7, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην προώθηση διαφόρων σταδίων της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων στο ATDC5. Επιπλέον, η ενεργοποίηση των διαύλων μεταβατικού υποδοχέα δυναμικού βανιλοειδών 4 (TRPV4) σε αυτά τα κύτταρα, σε συνδυασμό με την υαλουρονάνη, έχει αποδειχθεί ότι ενισχύει την έκφραση βασικών χονδρογενετικών δεικτών, όπως το SOX9 και η Aggrecan, υποστηρίζοντας περαιτέρω τη χρησιμότητά τους σε μελέτες μηχανικής ιστών χόνδρου.

Αυτή η κυτταρική σειρά έχει επίσης συμβάλει στην έρευνα πρωτεωμικής, δείχνοντας ότι τα κύτταρα ATDC5 μπορούν να συνθέτουν κύρια συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM) του χόνδρου, όπως η αγρεκάνη και το κολλαγόνο τύπου II, μαζί με τις κατάλληλες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που απαιτούνται για τη λειτουργία του χόνδρου. Η ικανότητά του να αναπαράγει κρίσιμα γεγονότα βιοσύνθεσης της ECM καθιστά το ATDC5 ένα απαραίτητο μοντέλο για τη μελέτη του σχηματισμού του χόνδρου και των σχετικών παθολογιών.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Έμβρυο

Disease

Τερατοκαρκίνωμα

Synonyms

ATDC-5

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

129

Age

Έμβρυο

Gender

Άντρας

Κύτταρα ATDC5 | 305427

Morphology Πολυγωνικό

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation ATDC5 (αριθμός καταλόγου Cytion 305427)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Accutase ανάλογα με το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C για 5-10 λεπτά ή μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα. Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Accutase, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% CO₂ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.

Seeding density 2×10^4 κύτταρα/cm²

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα ATDC5 | 305427**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα ATDC5 | 305427

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.