

ATDC5 ląstelės | 305427

Bendra informacija

Description

ATDC5 yra pelės chondrogeninių ląstelių linija, gauta iš pelės teratokarcinomos ląstelių ir plačiai naudojama kaip in vitro modelis chondrogenizei ir kremzlės vystymuisi tirti. Šioje ląstelių linijoje vyksta nuosekli chondrogeninė diferenciacija, imituojanti in vivo procesus, tokius kaip ląstelių kondensacija, ankstyvųjų chondrocitų žymenų, tokių kaip II tipo kolagenas ir agrekanas, raiška ir perėjimas į hipertrofinius chondrocitus, pasižyminčius X tipo kolageno raiška ir matrikso mineralizacija. Dėl gebėjimo veiksmingai daugintis ir diferencijuotis ATDC5 yra vertingas modelis, kuriuo galima tirti molekulinis mechanizmus, susijusius su skeleto vystymusi, ypač su endochondraline kaulėjimu.

ATDC5 ląstelės plačiai naudojamos tiriant įvairių augimo veiksnių, hormonų ir transkripcijos veiksnių įtaką chondrogenizei. Pavyzdžiui, nustatyta, kad transformuojantis augimo veiksnys beta (TGF- β) skatina ankstyvąją chondrogeninę diferenciaciją, moduliudamas ekstraląstelinio matrikso komponentų, tokių kaip fibronektinas, raišką. Panašiai ir kaulų morfogenetiniai baltymai (BMP), ypač BMP-2, -4 ir -7, atlieka lemiamą vaidmenį skatinant skirtingus ATDC5 chondrocitų diferenciacijos etapus. Be to, įrodyta, kad šiose ląstelėse aktyvuojant pereinamojo receptoriaus potencialo vaniljoido 4 (TRPV4) kanalus kartu su hialuronu sustiprinama pagrindinių chondrogeninių žymenų, tokių kaip SOX9 ir Aggrecan, raiška, o tai dar labiau patvirtina jų naudingumą kremzlės audinių inžinerijos tyrimuose.

Ši ląstelių linija taip pat padėjo atlikti proteomikos tyrimus, kurie parodė, kad ATDC5 ląstelės gali sintetinti pagrindinius kremzlės ekstraląstelinio matrikso (ECM) komponentus, tokius kaip agrekanas ir II tipo kolagenas, kartu su tinkamomis potransliacinėmis modifikacijomis, reikalingomis kremzlės funkcijai. Dėl gebėjimo atkartoti svarbiausius ECM biosintezės procesus ATDC5 tampa nepakeičiamu modeliu tiriant kremzlės formavimąsi ir susijusias patologijas.

Organism

Pelė

Tissue

Embrionas

Disease

Teratokarcinoma

Metastatic site

Netaikoma (gauta iš pelių embrioninės teratokarcinomos; nemetastazinis modelis)

Applications

Chondrogenezės tyrimai; kremzlės vystymasis ir endochondralinis kaulėjimas; chondrocitų diferenciacija (II tipo kolageno, agrekanio, SOX9 ekspresija); BMP-2/-4/-7 ir TGF- β signalizacija chondrocituose; osteoartrito modeliavimas; kremzlių audinių inžinerija; proteoglikanų biosintezė; TRPV4 kanalų biologija kremzliuose

Synonyms

ATDC-5

Charakteristikos

Breed/Subspecies

129

Age

Embrionas

ATDC5 ląstelės | 305427

Gender	Vyras
Morphology	Daugiakampis
Cell type	Chondrocytų pirmtakinės ląstelės
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	ATDC5 (Cytion katalogo numeris 305427)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0225
GMO Status	Be genetinių modifikacijų; iš laukinio tipo pelių teratokarcinomos išskirta chondrogeninė ląstelių linija

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį "Accutase" tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolboje, 3 ml T75 kolboje), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje 5-10 minučių arba tol, kol ląstelės atsiskirs. Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuota "Accutase", atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkeltite alikvotą ląstelių suspensijos į naują indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į 37 °C temperatūroje su 5 % CO₂ įkaitintą inkubatorių ir kas 2-3 dienas keiskite terpę.

ATDC5 ląstelės | 305427

Seeding density 2×10^4 ląstelės/cm²

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating Nėra

ATDC5 ląstelės | 305427

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.