

ATDC5 šūnas | 305427

Vispārīga informācija

Description

ATDC5 ir peļu hondrogēno šūnu līnija, kas iegūta no peļu teratokarcinomas šūnām un tiek plaši izmantota kā in vitro modelis hondroģenēzes un skrimšļa attīstības pētījumiem. Šajā šūnu līnijā notiek secīga hondrogēna diferenciācija, kas imitē in vivo procesus, piemēram, šūnu kondensāciju, agrīno hondrocītu marķieru, piemēram, II tipa kolagēna un agregkāna, ekspresiju un pāreju uz hipertrofiskiem hondrocītiem, ko raksturo X tipa kolagēna ekspresija un matricas mineralizācija. Pateicoties ATDC5 spējai efektīvi proliferēt un diferencēties, tas kalpo kā vērtīgs modelis, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas saistīti ar skeleta attīstību, jo īpaši endohondrālo osifikāciju.

ATDC5 šūnas ir plaši izmantotas, lai pētītu dažādu augšanas faktoru, hormonu un transkripcijas faktoru ietekmi uz hondrogēzi. Piemēram, ir pierādīts, ka transformējošais augšanas faktors beta (TGF- β) veicina agrīno hondrogēnu diferenciāciju, modulējot ekstracelulārā matricas komponentu, piemēram, fibronektīna, ekspresiju. Tāpat kaulu morfogenētiskajiem proteīniem (BMP), jo īpaši BMP-2, -4 un -7, ir izšķiroša nozīme dažādu ATDC5 hondrocītu diferenciācijas stadiju veicināšanā. Turklāt ir pierādīts, ka šo šūnu pārejas receptora potenciālā vanilolīda 4 (TRPV4) kanālu aktivizēšana kopā ar hialuronānu pastiprina galveno hondrogēno marķieru, piemēram, SOX9 un Aggrecan, ekspresiju, kas vēl vairāk apstiprina to lietderību skrimšļa audu inženierijas pētījumos.

Šī šūnu līnija ir bijusi noderīga arī proteomikas pētījumos, parādot, ka ATDC5 šūnas spēj sintezēt galvenās skrimšļa ārskrimšļa ārpusšūnu matricas (ECM) sastāvdaļas, piemēram, agregkānu un II tipa kolagēnu, kā arī atbilstošas post-translācijas modifikācijas, kas nepieciešamas skrimšļa funkcijām. ATDC5 spēja atdarināt būtiskākos ECM biosintēzes procesus padara ATDC5 par neaizstājamu modeli skrimšļa veidošanās un ar to saistīto patoloģiju izpētei.

Organism Pele

Tissue Embrijs

Disease Teratokarcinoma

Synonyms ATDC-5

Raksturojums

Breed/Subspecies 129

Age Embrijs

Gender Vīrieši

Morphology Daudzstūris

ATDC5 šūnas | 305427

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	ATDC5 (Cytion kataloga numurs 305427)
-----------------	---------------------------------------

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

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

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 5% FBS
--------------------	------------------------------

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

Subculturing	Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūkņēšanas pievienojiet atbilstošu Accutase šķīduma tilpumu, ņemot vērā kultūras trauka lielumu (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C 5 - 10 minūtes vai līdz šūnu atdalīšanai. Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievieno pilnu barotni, lai inaktivētu Accutase, maigi resuspendē šūnas un pārvieto šūnu suspensijas alikvotu jaunā barotnē ar svaīgu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5% CO ₂ , un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.
---------------------	---

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

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

ATDC5 šūnas | 305427

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ATDC5 šūnas | 305427

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.