

ATDC5-celler | 305427

Generell informasjon

Description

ATDC5 er en murin kondrogen cellelinje avledet fra teratokarsinomceller fra mus, og er mye brukt som en in vitro-modell for å studere kondrogenese og brusktutvikling. Denne cellelinjen gjennomgår sekvensiell kondrogen differensiering, noe som etterligner in vivo-prosesser som cellulær kondensasjon, uttrykk av tidlige kondrocytmarkører som type II-kollagen og aggrecan, og overgangen til hypertrofiske kondrocytter, som kjennetegnes av uttrykk av type X-kollagen og mineralisering av matriks. På grunn av sin evne til å proliferere og differensiere effektivt er ATDC5 en verdifull modell for å utforske molekylære mekanismer knyttet til skjelettutvikling, spesielt endokondral ossifikasjon.

ATDC5-celler har blitt brukt til å studere hvordan ulike vekstfaktorer, hormoner og transkripsjonsfaktorer påvirker kondrogenesen. For eksempel har transformering growth factor-beta (TGF- β) vist seg å fremme tidlig kondrogen differensiering ved å modulere uttrykket av ekstracellulære matrikskomponenter som fibronectin. På samme måte spiller benmorfogenetiske proteiner (BMP), særlig BMP-2, -4 og -7, en viktig rolle i å fremme ulike stadier av kondrocytdifferensiering i ATDC5. I tillegg har det vist seg at aktivering av TRPV4-kanaler (transient receptor potential vanilloid 4) i disse cellene, kombinert med hyaluronan, øker uttrykket av viktige kondrogene markører som SOX9 og Aggrecan, noe som ytterligere underbygger nytten av disse cellene i studier av bruskev.

Denne cellelinjen har også vært viktig i proteomforskning, og har vist at ATDC5-celler kan syntetisere viktige komponenter i brusksens ekstracellulære matriks (ECM), som aggrecan og type II-kollagen, sammen med de posttranslasjonsmodifikasjonene som er nødvendige for brusksens funksjon. ATDC5-cellenes evne til å rekapitulere viktige ECM-biosyntesehendelser gjør ATDC5 til en uunnværlig modell for studier av bruskdannelse og relaterte patologier.

Organism	Mus
Tissue	Embryo
Disease	Teratokarsinom
Synonyms	ATDC-5

Kjennetegn

Breed/Subspecies	129
Age	Embryo
Gender	Mann
Morphology	Polygonal

ATDC5-celler | 305427

Growth properties	Vedhengende
--------------------------	-------------

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 glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)
-----------------------	---

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

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

Subculturing	For rutinemessig adherent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS for å fjerne eventuelt gjenværende medium. Etter at PBS er aspirert, tilsett et passende volum Accutase-løsning basert på størrelsen på dyrkingskaret (f.eks. 1 ml for en T25-kolbe, 3 ml for en T75-kolbe), og inkuber ved romtemperatur eller 37 °C i 5-10 minutter, eller til cellene løsner. Overvåk løsrivelsen under mikroskop, og bank forsiktig på beholderen om nødvendig for å frigjøre cellene. Når cellene har løsnet, tilsett komplett medium for å inaktivere Accutase, resuspender cellene forsiktig, og overfør en aliquot av cellesuspensjonen til et nytt dyrkingskar med friskt medium. Sett beholderen i en inkubator innstilt på 37 °C med 5 % CO ₂ , og skift medium hver 2.-3. dag.
---------------------	--

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

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
----------------------	---

ATDC5-celler | 305427

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

ATDC5-celler | 305427

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.