

Komórki ATDC5 | 305427

Informacje ogólne

Description

ATDC5 to mysia chondrogenna linia komórkowa pochodząca z komórek mysiego potworniaka i jest szeroko stosowana jako model in vitro do badania chondrogenyzy i rozwoju chrząstki. Ta linia komórkowa podlega sekwencyjnemu różnicowaniu chondrogenicznemu, naśladując procesy in vivo, takie jak kondensacja komórek, ekspresja wczesnych markerów chondrocytarnych, takich jak kolagen typu II i agrekan, oraz przejście do hipertroficznnych chondrocytów, charakteryzujących się ekspresją kolagenu typu X i mineralizacją macierzy. Ze względu na zdolność do proliferacji i wydajnego różnicowania, ATDC5 służy jako cenny model do badania mechanizmów molekularnych związanych z rozwojem szkieletu, zwłaszcza kostnienia endochondralnego.

Komórki ATDC5 były szeroko wykorzystywane do badania wpływu różnych czynników wzrostu, hormonów i czynników transkrypcyjnych na chondrogenezę. Na przykład wykazano, że transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β) promuje wczesne różnicowanie chondrogenne poprzez modulowanie ekspresji składników macierzy zewnątrzkomórkowej, takich jak fibronektyna. Podobnie, białka morfogenetyczne kości (BMP), w szczególności BMP-2, -4 i -7, odgrywają kluczową rolę w promowaniu różnych etapów różnicowania chondrocytów w ATDC5. Ponadto wykazano, że aktywacja kanałów przejściowego potencjału receptora waniloidowego 4 (TRPV4) w tych komórkach, w połączeniu z hialuronianem, zwiększa ekspresję kluczowych markerów chondrogennych, takich jak SOX9 i Aggrecan, dodatkowo wspierając ich użyteczność w badaniach inżynierii tkanki chrzęstnej.

Ta linia komórkowa odegrała również kluczową rolę w badaniach proteomicznych, wykazując, że komórki ATDC5 mogą syntetyzować główne składniki macierzy zewnątrzkomórkowej chrząstki (ECM), takie jak agrekan i kolagen typu II, wraz z odpowiednimi modyfikacjami potranslacyjnymi wymaganymi do funkcjonowania chrząstki. Zdolność do odtwarzania kluczowych procesów biosyntezy ECM sprawia, że ATDC5 jest niezbędnym modelem do badania tworzenia chrząstki i związanych z nią patologii.

Organism

Mysz

Tissue

Zarodek

Disease

Teratocarcinoma

Metastatic site

Nie dotyczy (pochodzący z teratocarcinomy embrionalnej myszy; model bez przerzutów)

Applications

Badania nad chondrogenezą; rozwój chrząstki i kostnienie śródchrzęstne; różnicowanie chondrocytów (kolagen typu II, agrekan, ekspresja SOX9); szlaki sygnałowe BMP-2/-4/-7 i TGF- β w chondrocytach; modelowanie choroby zwyrodnieniowej stawów; inżynieria tkankowa chrząstki; biosynteza proteoglikanów; biologia kanałów TRPV4 w chrząstce

Synonyms

ATDC-5

Charakterystyka

Breed/Subspecies

129

Komórki ATDC5 | 305427**Age** Zarodek**Gender** Męczyzna**Morphology** Wielokątny**Cell type** Komórki prekursorowe chondrocytów**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** ATDC5 (numer katalogowy Cytion 305427)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0225**GMO Status** Bez modyfikacji genetycznych; linia komórek chondrogenicznych pochodząca z dzikiego typu mysiego teratokarcinoma**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 5% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki ATDC5 | 305427

Subculturing W przypadku rutynowej hodowli komórek adherentnych: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Accutase w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C przez 5-10 minut lub do momentu odłączenia się komórek. Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji Accutazy, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i wymieniać pożywkę co 2-3 dni.

Seeding density 2×10^4 komórek/cm²

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki ATDC5 | 305427

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.