

Células ATDC5 | 305427**Informações gerais****Description**

A ATDC5 é uma linha celular condrogénica murina derivada de células de teratocarcinoma de ratinho e é amplamente utilizada como modelo in vitro para estudar a condrogénese e o desenvolvimento da cartilagem. Esta linha celular sofre uma diferenciação condrogénica sequencial, imitando processos in vivo como a condensação celular, a expressão de marcadores condrocíticos iniciais como o colagénio tipo II e o aggrecan, e a transição para condrocitos hipertróficos, marcada pela expressão de colagénio tipo X e mineralização da matriz. Devido à sua capacidade de proliferação e diferenciação eficientes, as células ATDC5 constituem um modelo valioso para explorar os mecanismos moleculares relacionados com o desenvolvimento do esqueleto, especialmente a ossificação endocondral.

As células ATDC5 têm sido amplamente utilizadas para estudar a influência de vários factores de crescimento, hormonas e factores de transcrição na condrogénese. Por exemplo, foi demonstrado que o fator de crescimento transformador beta (TGF- β) promove a diferenciação condrogénica precoce através da modulação da expressão de componentes da matriz extracelular como a fibronectina. Da mesma forma, as proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), particularmente BMP-2, -4 e -7, desempenham um papel crítico na promoção de diferentes fases da diferenciação de condrocitos em ATDC5. Além disso, foi demonstrado que a ativação dos canais transientes do recetor potencial vanilóide 4 (TRPV4) nestas células, combinada com hialuronano, aumenta a expressão de marcadores condrogénicos essenciais, tais como SOX9 e Aggrecan, o que reforça a sua utilidade em estudos de engenharia de tecidos de cartilagem.

Esta linha celular também tem sido fundamental na investigação proteómica, demonstrando que as células ATDC5 podem sintetizar os principais componentes da matriz extracelular (ECM) da cartilagem, como o aggrecan e o colagénio de tipo II, juntamente com as modificações pós-traducionais adequadas necessárias para a função da cartilagem. A sua capacidade de recapitular eventos cruciais de biossíntese da MEC faz da ATDC5 um modelo indispensável para o estudo da formação da cartilagem e das patologias relacionadas.

Organism Rato**Tissue** Embrião**Disease** Teratocarcinoma**Synonyms** ATDC-5**Caraterísticas****Breed/Subspecies** 129**Age** Embrião**Gender** Masculino**Morphology** Poligonal

Células ATDC5 | 305427

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation ATDC5 (número de catálogo Cytion 305427)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)

Supplements Completar o meio com 5% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Para cultura de rotina de células aderentes: Aspirar o meio de cultura antigo das células aderentes e lavá-las com PBS para remover qualquer meio restante. Depois de aspirar o PBS, adicionar o volume adequado de solução de Accutase com base no tamanho do recipiente de cultura (por exemplo, 1 ml para um frasco T25, 3 ml para um frasco T75) e incubar à temperatura ambiente ou a 37°C durante 5-10 minutos ou até as células se destacarem. Monitorizar o desprendimento sob um microscópio e, se necessário, bater suavemente no recipiente para libertar as células. Uma vez desprendidas, adicionar meio completo para inativar a Accutase, ressuspender suavemente as células e transferir uma alíquota da suspensão de células para um novo recipiente de cultura contendo meio fresco. Colocar o recipiente numa incubadora regulada para 37°C com 5% de CO₂ e mudar o meio a cada 2-3 dias.

Seeding density 2×10^4 células/cm²

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células ATDC5 | 305427

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células ATDC5 | 305427

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.