

ATDC5-celler | 305427

Allmän information

Description

ATDC5 är en murin kondrogen cellinje som härrör från teratokarcinomceller från mus och används ofta som en in vitro-modell för att studera kondrogenes och broskutveckling. Denna cellinje genomgår sekventiell kondrogen differentiering, vilket efterliknar in vivo-processer som cellulär kondensation, uttryck av tidiga kondrocytiska markörer som typ II-kollagen och aggrecan, och övergången till hypertrofiska kondrocyter, som kännetecknas av uttryck av typ X-kollagen och matrismineralisering. På grund av sin förmåga att proliferera och differentiera effektivt är ATDC5 en värdefull modell för att utforska molekylära mekanismer relaterade till skelettutveckling, särskilt endokondral ossifikation.

ATDC5-celler har använts i stor utsträckning för att studera hur olika tillväxtfaktorer, hormoner och transkriptionsfaktorer påverkar kondrogenesen. Till exempel har transforming growth factor-beta (TGF- β) visat sig främja tidig kondrogen differentiering genom att modulera uttrycket av extracellulära matriskomponenter som fibronektin. På samma sätt spelar benmorfogenetiska proteiner (BMP), särskilt BMP-2, -4 och -7, en avgörande roll för att främja olika stadier av kondrocytdifferentiering i ATDC5. Dessutom har aktiveringen av TRPV4-kanaler (transient receptor potential vanilloid 4) i dessa celler, i kombination med hyaluronan, visat sig öka uttrycket av viktiga kondrogena markörer som SOX9 och Aggrecan, vilket ytterligare stöder deras användbarhet i studier av broskvävnadsteknik.

Denna cellinje har också varit avgörande för proteomikforskningen och visat att ATDC5-celler kan syntetisera viktiga komponenter i broskets extracellulära matris (ECM), som aggrecan och kollagen typ II, tillsammans med de posttranslationella modifieringar som krävs för broskets funktion. Dess förmåga att rekapitulera viktiga ECM-biosynteshändelser gör ATDC5 till en outhärlig modell för att studera broskbildning och relaterade patologier.

Organism

Mus

Tissue

Embryo

Disease

Teratokarcinom

Synonyms

ATDC-5

Egenskaper

Breed/Subspecies

129

Age

Embryo

Gender

Man

Morphology

Polygonal

Growth properties

Följsam

ATDC5-celler | 305427

Lagstadgade uppgifter

Citation ATDC5 (Cytion katalognummer 305427)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Komplettera mediet med 5% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing För rutinmässig adherent cellkultur: Aspirera det gamla odlingsmediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS för att avlägsna eventuellt kvarvarande medium. Efter aspirering av PBS, tillsätt lämplig volym Accutase-lösning baserat på odlingskärllets storlek (t.ex. 1 ml för en T25-kolv, 3 ml för en T75-kolv) och inkubera vid rumstemperatur eller 37°C i 5-10 minuter, eller tills cellerna lossnar. Övervaka avskiljningen under mikroskop och knacka försiktigt på kärlet om det behövs för att frigöra cellerna. När cellerna har lossnat, tillsätt komplett medium för att inaktivera Accutase, resuspendera cellerna försiktigt och överför en aliquot av cellsuspensionen till ett nytt odlingskärl med färskt medium. Placera kärlet i en inkubator inställd på 37°C med 5%_{CO₂} och byt medium var 2-3:e dag.

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

ATDC5-celler | 305427

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

ATDC5-celler | 305427

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.