

**Bunky ATDC5 | 305427****Všeobecné informácie****Description**

ATDC5 je línia myších chondrogénnych buniek odvodená z myších teratokarcinómových buniek a široko sa používa ako in vitro model na štúdium chondrogenézy a vývoja chrupavky. Táto bunková línia prechádza postupnou chondrogénnou diferenciáciou, ktorá napodobňuje procesy in vivo, ako je bunková kondenzácia, expresia skorých chondrocytových markerov, ako je kolagén typu II a agrekan, a prechod na hypertrofické chondrocyty, ktoré sa vyznačujú expresiou kolagénu typu X a mineralizáciou matrix. Vďaka svojej schopnosti efektívne proliferovať a diferencovať slúži ATDC5 ako cenný model na skúmanie molekulárnych mechanizmov súvisiacich s vývojom skeletu, najmä s endochondrálnou osifikáciou.

Bunky ATDC5 sa vo veľkej miere používajú na štúdium vplyvu rôznych rastových faktorov, hormónov a transkripčných faktorov na chondrogenézu. Napríklad sa ukázalo, že transformujúci rastový faktor beta (TGF- $\beta$ ) podporuje včasnú chondrogénnu diferenciáciu moduláciou expresie zložiek extracelulárnej matrix, ako je fibronektín. Podobne kostné morfogenetické proteíny (BMP), najmä BMP-2, -4 a -7, zohrávajú rozhodujúcu úlohu pri podpore rôznych štádií diferencie chondrocytov v ATDC5. Okrem toho sa preukázalo, že aktivácia kanálov prechodného receptorového potenciálu vanilloidu 4 (TRPV4) v týchto bunkách v kombinácii s hyaluronanom zvyšuje expresiu kľúčových chondrogénnych markerov, ako sú SOX9 a Aggrecan, čo ďalej podporuje ich užitočnosť v štúdiách tkanivového inžinierstva chrupavky.

Táto bunková línia zohrala dôležitú úlohu aj v proteomickom výskume, ktorý ukázal, že bunky ATDC5 dokážu syntetizovať hlavné zložky extracelulárnej matrix (ECM) chrupavky, ako sú aggrecan a kolagén typu II, spolu so správnymi posttranslačnými modifikáciami potrebnými pre funkciu chrupavky. Schopnosť rekapitulovať kľúčové udalosti biosyntézy ECM robí z ATDC5 nenahraditeľný model na štúdium tvorby chrupavky a súvisiacich patológií.

**Organism** Myš**Tissue** Embryo**Disease** Teratokarcinóm**Synonyms** ATDC-5**Charakteristika****Breed/Subspecies** 129**Age** Embryo**Gender** Muži**Morphology** Polygonálne

**Bunky ATDC5 | 305427****Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** ATDC5 (katalógové číslo Cytion 305427)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 5 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Na bežné adherentné bunkové kultúry: Odstráňte staré kultivačné médium z adherentných buniek a premyte ich PBS, aby ste odstránili zvyšné médium. Po odsatí PBS pridajte príslušný objem roztoku Accutase podľa veľkosti kultivačnej nádoby (napr. 1 ml pre banku T25, 3 ml pre banku T75) a inkubujte pri izbovej teplote alebo 37 °C počas 5 - 10 minút alebo kým sa bunky neoddelia. Oddeľovanie sledujte pod mikroskopom a v prípade potreby jemne poklepte na nádobu, aby sa bunky uvoľnili. Po oddelení pridajte kompletne médium na inaktiváciu akútázy, jemne resuspendujte bunky a alikvotnú časť bunkovej suspenzie preneste do novej kultivačnej nádoby obsahujúcej čerstvé médium. Umiestnite nádobu do inkubátora nastaveného na 37 °C s 5 % CO<sub>2</sub> a každé 2 - 3 dni vymeňte médium.**Seeding density** 2 x 10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup>**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky ATDC5 | 305427

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky ATDC5 | 305427

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.