Product sheet

Клетки MC3T3-E1 субклон 14 | 305185

Обща информация

Description	Клетките MC3T3-E1 Subclone 14 са ценен ресурс в биологичната наука, по-специално в изследването на остеобластите. Получени от калвия на мишка C57BL/6, тези клетки са внимателно подбрани въз основа на високата им активност на алкална фосфатаза (ALP) в състояние на покой. Тази уникална характеристика ги прави идеален модел за изследване на остеобластната диференциация и образуването на калцирана костна тъкан in vitro. Като преостеобластен клетъчен тип, клетките MC3T3-E1 Subclone 14 проявяват фибробластна морфология и са свързани предимно с костна тъкан, получена от калвария. Една от забележителните характеристики на клетките MC3T3-E1 Subclone 14 е способността им да се диференцират в остеобласти и остеоцити. Благодарение на широкото си морфологично и функционално сходство с първичните калвариални остеобласти тези клетки предлагат надеждна платформа за изучаване на сигнализацията и поведението на извънклетъчния матрикс (ЕКМ), свързани с диференциацията на остеобластите. Когато се култивират с аскорбинова киселина и неорганичен фосфат в оптимални концентрации (3 до 4 mM), клетките MC3T3-E1 Subclone 14 показват забележителни нива на остеобластна диференциация. Само след десет дни те образуват добре минерализирана ЕЦМ, предоставяйки на изследователите прозорец към сложния процес на образуване на костна тъкан. Нещо повече, установено е, че тези клетки отделят колаген, основен компонент на костната тъкан, и експресират инхибиторния фактор на морската левкемия (MIF) в РНК. Тези характеристики допълнително допринасят за значението им при изследването на различни биологични процеси, свързани с развитието и хомеостазата на костите. Клетъчната линия MC3T3-E1 Subclone 14 също е използвана в най-съвременни изследвания. Например, тя е използвана за предлагане на рамка за анализ на цитоскелета на актиновите нишки, предлагайки поглед върху сложната вътреклетъчна архитектура на остеобластите. Освен това изследователите са проучили въздействието на биоразградими магнезий и магнезиеви сплави върху тези клетки, като са изследвали взаимодействието им с различни материали и въздействието им върху избрани клетъчни свойства. С разнообразните си приложения тези клетки са безценни в изследванията на 3D клетъчни култури, като осигуряват реалистичен in vitro модел за изследване на поведението и диференциацията на остеобластите в триизмерна среда. Тяхната значимост се разпростира върху различни изследователски области, включително тъканно инженерство, костна регенерация и разработване на терапевтични интервенции за заболявания, свързани с костите.
Organism	Мишка
Tissue	Кост, калвария
Applications	3D клетъчна култура, изследвания на диференциацията
Synonyms	MC3T3-E1 СУБКЛОН 14

Product sheet

Клетки MC3T3-E1 субклон 14 | 305185

Характеристики

Breed/Subspecies	C57BL/6
Age	Новородено
Gender	Неуточнено
Morphology	Фибробласти
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	MC3T3-E1 подклон 14 (каталожен номер на Cytion 305185)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5437

Биомолекулярни данни

Protein expression	Колаген
Tumorigenic	Да

Работа с

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: рибонуклеозиди, w: дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO3, w/o: Аскорбинова киселина (GIBCO, каталожен № A1049001. Ние не доставяме този продукт; моля, помислете за други доставчици. Моля, уведомете ни, ако се нуждаете от допълнително съдействие.)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки MC3T3-E1 субклон 14 | 305185

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MC3T3-E1 субклон 14 | 305185

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MC3T3-E1 субклон 14 | 305185

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.