

Клетки MC3T3-E1 субклон 24 | 305186

Обща информация

Description

Клетките MC3T3-E1 Subclone 24 представляват изрично преостеобластен клетъчен тип, който играе решаваща роля в образуването на костите. Морфологично те имат фибробластен вид, характеризиращ се с издължена форма и вретеновидни структури. Този конкретен подклон произхожда от тъканта на калвария - област на черепа, която допринася за образуването на костите. Едно от критичните приложения на клетките от подклона MC3T3-E1 24 се състои в 3D клетъчната култура, където изследователите могат да изучават поведението и взаимодействията на тези клетки в триизмерна среда. Този метод предлага по-физиологично релевантен модел от традиционните двуизмерни клетъчни култури, което позволява по-добро разбиране на сложните процеси, свързани с образуването на костите.

Въпреки че тези клетки притежават множество предимства, важно е да се отбележат техните специфични характеристики. Наблюдава се, че клетките MC3T3-E1 субклон 24 проявяват слаба остеобластна диференциация, когато са изложени на аскорбинова киселина - ключов компонент за стимулиране на растежа на костните клетки. Освен това те не образуват минерализиран извънклетъчен матрикс - решаваща стъпка при създаването на костна тъкан. Времето за удвояване на клетките MC3T3-E1 Subclone 24 е приблизително 90,5 часа.

Organism Мишка

Tissue Bone

Applications 3D клетъчна култура, изследвания на диференциацията

Характеристики

Breed/Subspecies C57BL/6

Age 1 ден

Gender Неуточнено

Morphology Фибробласти

Cell type Остеобласт

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки MC3T3-E1 субклон 24 | 305186

Citation	MC3T3-E1 субклон 24 (каталожен номер 305186 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5438

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Рецептор на свързания с паратиroidния хормон протеин (PTHrP)
Protein expression	Колаген, костен сиалопротеин (BSP), остеокалцин (OCN), паратиреоиден хормон (PTH)
Tumorigenic	Да, при имunosупресирани мишки

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 NaHCO ₃ , 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
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 ресуспендирайте, 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.
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 24 | 305186

**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 или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

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

Клетки MC3T3-E1 субклон 24 | 305186

Shipping Conditions

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.

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 / Генетичен профил / HLA

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.