Product sheet

Buňky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Obecné informace

Description	Buňky MC3T3-E1 subklon 14 jsou cenným zdrojem v biologických vědách, konkrétně při studiu osteoblastů. Tyto buňky, odvozené z kalvárie myší C57BL/6, byly pečlivě vybrány na základě jejich vysoké aktivity alkalické fosfatázy (ALP) v klidovém stavu. Tato jedinečná vlastnost z nich činí ideální model pro zkoumání diferenciace osteoblastů a tvorby kalcifikované kostní tkáně in vitro. Jako preosteoblastový buněčný typ vykazují buňky MC3T3-E1 Subclone 14 morfologii fibroblastů a jsou primárně spojeny s kostní tkání odvozenou z kalvárie. Jednou z pozoruhodných vlastností buněk MC3T3-E1 Subclone 14 je jejich schopnost diferencovat se v osteoblasty a osteocyty. Díky své rozsáhlé morfologické a funkční podobnosti s primárními kalváriovými osteoblasty nabízejí tyto buňky spolehlivou platformu pro studium signalizace extracelulární matrix (ECM) a chování souvisejícího s diferenciací osteoblastů. Při kultivaci s kyselinou askorbovou a anorganickým fosforečnanem v optimálních koncentracích (3 až 4 mM) vykazují buňky MC3T3-E1 Subclone 14 pozoruhodnou úroveň diferenciace osteoblastů. Již po deseti dnech vytvářejí dobře mineralizovanou ECM, což vědcům umožňuje nahlédnout do složitého procesu tvorby kostní tkáně. Navíc bylo zjištěno, že tyto buňky vylučují kolagen, základní složku kostní tkáně, a exprimují inhibiční faktor myší leukémie (MIF) v RNA. Tyto vlastnosti dále přispívají k jejich významu při zkoumání různých biologických procesů souvisejících s vývojem a homeostázou kostí. Buněčná linie MC3T3-E1 Subclone 14 byla rovněž použita ve špičkovém výzkumu. Byla například využita k návrhu rámce analýzy cytoskeletu aktinových vláken, který nabízí pohled na komplexní intracelulární architekturu osteoblastů. Kromě toho vědci zkoumali účinky biologicky odbouratelného hořčíku a hořčíkových slitin na tyto buňky a studovali jejich interakce s různými materiály a jejich vliv na vybrané buněčné vlastnosti. Díky svému rozmanitému využití jsou tyto buňky neocenitelné při studiu 3D buněčných kultur, protože poskytují realistický in vitro model pro zkoumání chování a diferenciace osteoblastů v trojrozměrném prostředí. Jejich význam se rozšiřuje na různé oblasti výzkumu, včetně tkáňového inženýrství, regenerace kostí a vývoje terapeutických zásahů u poruch souvisejících s kostmi.
Organism	Myš
Tissue	Kosti, calvaria
Applications	3D buněčné kultury, diferenciační studie
Synonyms	MC3T3-E1 SUBKLON 14

Charakteristika

Breed/Subspecies	C57BL/6

Product sheet

Buňky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Age	Novorozenci
Gender	Nespecifikováno
Morphology	Fibroblasty
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	MC3T3-E1 subklon 14 (katalogové číslo Cytion 305185)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5437

Biomolekulární data

Protein expression	Kolagen
Tumorigenic	Ano

Zpracování

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: ribonukleosidy, w: deoxyribonukleosidy, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3, w/o: Kyselina askorbová (GIBCO, katalogové číslo A1049001. Tento produkt nedodáváme; zvažte prosím jiné dodavatele. Pokud potřebujete další pomoc, dejte nám prosím vědět.)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Buňky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1:2 až 1:4
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Buňky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

Profil STR

M_18-3: 15
M_4-2: 20.3
M_6-7: 17
M_3-2: 14
M_19-2: 13
M_7-1: 26.2
M_1-1: 16,17
M_Sex: x,y
M_8-1: 16
M_2-1: 16
M_15-3: 22.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 19
M_17-2: 16
M_12-1: 17
M_5-5: 17
M_X-1: 28
M_13-1: 16
Human D4/D8: -