

MC3T3-E1 subklon 24 buněk | 305186**Obecné informace****Description**

Buňky subklonu 24 MC3T3-E1 výslovně představují preosteoblastový typ buněk, který hraje klíčovou roli při tvorbě kostí. Morfologicky vykazují vzhled podobný fibroblastům, vyznačují se protáhlým tvarem a vřetenovitými strukturami. Tento konkrétní subklon pochází z tkáně calvaria, oblasti lebky, která se podílí na tvorbě kostí. Jedno z rozhodujících využití buněk subklonu 24 MC3T3-E1 spočívá v 3D buněčné kultuře, kde mohou výzkumníci studovat chování a interakce těchto buněk v trojrozměrném prostředí. Tato metoda nabízí fyziologicky relevantnější model než tradiční dvourozměrné buněčné kultury, což umožňuje lépe porozumět složitým procesům, které se podílejí na tvorbě kostí.

I když tyto buňky mají řadu výhod, je důležité si uvědomit jejich specifické vlastnosti. Bylo zjištěno, že buňky subklonu 24 MC3T3-E1 vykazují špatnou diferenciaci osteoblastů, pokud jsou vystaveny působení kyseliny askorbové, která je klíčovou složkou pro podporu růstu kostních buněk. Navíc netvoří mineralizovanou extracelulární matrix, což je klíčový krok při tvorbě kostní tkáně. Doba zdvojení buněk MC3T3-E1 Subclone 24 je přibližně 90,5 hodiny.

Organism Myš**Tissue** Kost**Applications** 3D buněčné kultury, diferenciační studie**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6**Age** 1 den**Gender** Nespecifikováno**Morphology** Fibroblasty**Cell type** Osteoblasty**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** MC3T3-E1 subklon 24 (katalogové číslo Cytion 305186)**Biosafety level** 1

MC3T3-E1 subklon 24 buněk | 305186

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5438

Biomolekulární data**Receptors expressed** Receptor pro protein související s parathormonem (PTHrP)**Protein expression** Kolagen, kostní sialoprotein (BSP), osteokalcin (OCN), parathormon (PTH)**Tumorigenic** Ano, u imunosuprimovaných myší**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**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**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.

MC3T3-E1 subklon 24 buněk | 305186**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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 odstředujte 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.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , 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.

MC3T3-E1 subklon 24 buněk | 305186

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 / Genetický profil / HLA

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.