

**MC3T3-E1 Υποκλώνος 24 κυττάρων | 305186****Γενικές πληροφορίες****Description**

Τα κύτταρα MC3T3-E1 Subclone 24 αντιπροσωπεύουν ρητά έναν τύπο κυττάρων προστεοβλαστών, ο οποίος διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στον σχηματισμό των οστών. Μορφολογικά, παρουσιάζουν μια εμφάνιση που μοιάζει με ινοβλάστη, η οποία χαρακτηρίζεται από το επιμήκες σχήμα τους και τις ατρακτοειδείς δομές τους. Ο συγκεκριμένος υποκλώνος προέρχεται από τον ιστό της καλυβικής, μια περιοχή του κρανίου που συμβάλλει στον σχηματισμό των οστών. Μία από τις κρίσιμες εφαρμογές των κυττάρων του υποκλώνου 24 MC3T3-E1 έγκειται στην τρισδιάστατη κυτταρική καλλιέργεια, όπου οι ερευνητές μπορούν να μελετήσουν τη συμπεριφορά και τις αλληλεπιδράσεις αυτών των κυττάρων μέσα σε ένα τρισδιάστατο περιβάλλον. Η μέθοδος αυτή προσφέρει ένα πιο φυσιολογικά σχετικό μοντέλο από τις παραδοσιακές δισδιάστατες κυτταροκαλλιέργειες, επιτρέποντας την καλύτερη κατανόηση των περίπλοκων διαδικασιών που εμπλέκονται στον σχηματισμό των οστών.

Ενώ τα κύτταρα αυτά διαθέτουν πολυάριθμα πλεονεκτήματα, είναι σημαντικό να σημειωθούν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους. Έχει παρατηρηθεί ότι τα κύτταρα MC3T3-E1 Subclone 24 παρουσιάζουν φτωχή διαφοροποίηση των οστεοβλαστών όταν εκτίθενται σε ασκορβικό οξύ, ένα βασικό συστατικό για την προώθηση της ανάπτυξης των οστικών κυττάρων. Επιπλέον, δεν σχηματίζουν μια ανοργανοποιημένη εξωκυτταρική μήτρα, ένα κρίσιμο βήμα για τη δημιουργία οστικού ιστού. Ο χρόνος διπλασιασμού των κυττάρων MC3T3-E1 Subclone 24 είναι περίπου 90,5 ώρες.

**Organism** Ποντίκι**Tissue** Οστά**Applications** τρισδιάστατη κυτταρική καλλιέργεια, μελέτες διαφοροποίησης**Χαρακτηριστικά****Breed/Subspecies** C57BL/6**Age** 1 ημέρα**Gender** Απροσδιόριστο**Morphology** Ινοβλάστες**Cell type** Οστεοβλάστες**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα**

**MC3T3-E1 Υποκλώνος 24 κυττάρων | 305186****Citation** MC3T3-E1 Υποκλώνος 24 (αριθμός καταλόγου Cytion 305186)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5438**Βιομοριακά δεδομένα****Receptors expressed** Υποδοχέας πρωτεΐνης σχετιζόμενης με την παραθορμόνη (PTHrP)**Protein expression** Κολλαγόνο, σιαλοπρωτεΐνη των οστών (BSP), οστεοκαλσίνη (OCN), παραθορμόνη (PTH)**Tumorigenic** Ναι, σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια**Χειρισμός****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w: ριβονουκλεοζίτες, w: δεοξυριβονουκλεοζίτες, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>, w/o: Ασκορβικό οξύ (GIBCO, αριθ. καταλόγου A1049001. Δεν προμηθεύουμε αυτό το προϊόν- παρακαλούμε να εξετάσετε άλλους προμηθευτές. Παρακαλούμε ενημερώστε μας εάν χρειάζεστε περαιτέρω βοήθεια)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**MC3T3-E1 Υποκλώνος 24 κυττάρων | 305186****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## MC3T3-E1 Υποκλώνος 24 κυττάρων | 305186

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.