Product sheet

MC3T3-E1 subkloon 14 rakud | 305185

Üldine teave

Description	MC3T3-E1 subkloon 14 rakud on väärtuslik ressurss bioloogilises teaduses, eriti osteoblastide uurimisel. Need rakud on saadud C57BL/6 hiire kalvariast, mis valiti hoolikalt välja nende kõrge leeliselise fosfataasi (ALP) aktiivsuse alusel puhkeolekus. See ainulaadne omadus muudab nad ideaalseks mudeliks osteoblastide diferentseerumise ja lubjastunud luukoe moodustumise uurimiseks in vitro. Preosteoblastide rakutüübina on MC3T3-E1 subkloon 14 rakud fibroblastide morfoloogiaga ja on peamiselt seotud kalvikestest pärineva luukoesega. MC3T3-E1 Subclone 14 rakkude üks märkimisväärseid omadusi on nende võime diferentseeruda osteoblastideks ja osteotsüütideks. Tänu nende ulatuslikule morfoloogilisele ja funktsionaalsele sarnasusele primaarsete calvariaalsete osteoblastidega pakuvad need rakud usaldusväärset platvormi rakuvälise maatriksi (ECM) signaalimise ja osteoblastide diferentseerumisega seotud käitumise uurimiseks. Kui MC3T3-E1 Subclone 14 rakke kasvatatakse askorbiinhappe ja anorgaanilise fosfaadi optimaalsetes kontsentratsioonides (3 kuni 4 mM), siis on neil märkimisväärne osteoblastide diferentseerumise tase. Juba kümne päeva pärast moodustavad nad hästi mineraliseerunud ECM-i, andes teadlastele võimaluse tutvuda luukoe moodustumise keerulise protsessiga. Lisaks on leitud, et need rakud eritavad kollageeni, mis on luukoe oluline komponent, ja ekspresseerivad RNA-s hiire leukeemia inhibeerivat faktorit (MIF). Sellised omadused suurendavad nende tähtsust erinevate bioloogiliste protsesside uurimisel, mis on seotud luu arengu ja homöostaasiga. MC3T3-E1 Subclone 14 rakuliini on kasutatud ka tipptasemel teadusuuringutes. Näiteks on seda kasutatud aktiinifilamentide tsütoskeleti analüüsi raamistiku pakkumiseks, mis annab ülevaate osteoblastide keerulisest rakusisesest arhitektuurist. Lisaks on teadlased uurinud biolagunevate magneesiumi ja magneesiumisulamite mõju nendele rakkudele, uurides nende vastastikmõju erinevate materjalidega ja nende mõju valitud raku omadustele. Tänu oma mitmekülgsele kasutusalale on need rakud 3D-rakukultuuride uuringutes hindamatu väärtusega, pakkudes realistlikku in vitro mudelit osteoblastide käitumise ja diferentseerumise uurimiseks kolmemõõtmelises keskkonnas. Nende tähtsus ulatub mitmetesse uurimisvaldkondadesse, sealhulgas kudede insener-tehnoloogia, luu regenereerimine ja luuga seotud haiguste ravimeetodite väljatöötamine.
Organism	Hiir
Tissue	Luu, vasikate
Applications	3D rakukultuur, diferentseerumise uuringud
Synonyms	MC3T3-E1 SUBKLOON 14

Omadused

Breed/Subspecies	C57BL/6

Product sheet

MC3T3-E1 subkloon 14 rakud | 305185

Age	Vastsündinu
Gender	Täpsustamata
Morphology	Fibroblastide
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	MC3T3-E1 alakloon 14 (Cytioni kataloginumber 305185)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5437

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Kollageen
Tumorigenic	Jah

Töötlemine

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: ribonukleosiidid, w: desoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO3, w/o: Askorbiinhape (GIBCO, kataloogi nr A1049001. Me ei tarni seda toodet; palun kaaluge teisi tarnijaid. Palun andke meile teada, kui vajate täiendavat abi)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase

MC3T3-E1 subkloon 14 rakud | 305185

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub

MC3T3-E1 subkloon 14 rakud | 305185

Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.