

MC3T3-E1 subkloon 24 rakud | 305186**Üldine teave****Description**

MC3T3-E1 subkloon 24 rakud esindavad selgelt preosteoblastide rakutüüpi, millel on oluline roll luustiku moodustamisel. Morfoloogiliselt on neil fibroblastide sarnane välimus, mida iseloomustavad nende piklik kuju ja spindlilaadsed struktuurid. See konkreetne alamkloon pärineb calvaria koest, mis on kolju piirkond, mis aitab kaasa luu moodustumisele. MC3T3-E1 subkloon 24 rakkude üks kriitilisi rakendusi on 3D rakukultuur, kus teadlased saavad uurida nende rakkude käitumist ja vastastikmõju kolmemõõtmelises keskkonnas. See meetod pakub füsioloogiliselt asjakohasemat mudelit kui traditsioonilised kahemõõtmelised rakukultuurid, mis võimaldab paremini mõista luu moodustamisega seotud keerulisi protsesse.

Kuigi neil rakkudel on mitmeid eeliseid, on oluline märkida nende eripära. MC3T3-E1 subkloon 24 rakkude puhul on täheldatud, et need diferentseeruvad halvasti osteoblastideks, kui nad puutuvad kokku askorbiinhappega, mis on peamine komponent luurakkude kasvu soodustamiseks. Lisaks ei moodusta nad mineraliseerunud rakuvälise maatriksi, mis on oluline samm luukoe loomisel. MC3T3-E1 Subclone 24 rakkude kahekordistumisaeg on ligikaudu 90,5 tundi.

Organism Hiir**Tissue** Bone**Applications** 3D rakukultuur, diferentseerumise uuringud**Omadused****Breed/Subspecies** C57BL/6**Age** 1 päev**Gender** Täpsustamata**Morphology** Fibroblastide**Cell type** Osteoblastid**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** MC3T3-E1 subkloon 24 (Cytion katalooginumber 305186)**Biosafety level** 1

MC3T3-E1 subkloon 24 rakud | 305186

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5438

Biomolekulaarsed andmed**Receptors expressed** Kõrvalkilpnäärme hormooniga seotud valgu (PTHrP) retseptor**Protein expression** Kollageen, luu sialoproteiin (BSP), osteokaltsiin (OCN), parathormoon (PTH)**Tumorigenic** Jah, immuunsupressiooniga hiirtel**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**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.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MC3T3-E1 subkloon 24 rakud | 305186**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MC3T3-E1 subkloon 24 rakud | 305186

**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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.