Product sheet

MC3T3-E1-alaklooni 14 solut | 305185

Yleisiä tietoja

Description	MC3T3-E1 Subclone 14 -solut ovat arvokas resurssi biologisessa tieteessä, erityisesti osteoblastien tutkimuksessa. Nämä C57BL/6-hiiren kalvariasta peräisin olevat solut valittiin huolellisesti niiden korkean alkalisen fosfataasin (ALP) aktiivisuuden perusteella lepotilassa. Tämä ainutlaatuinen ominaisuus tekee niistä ihanteellisen mallin osteoblastien erilaistumisen ja kalkkipitoisen luukudoksen muodostumisen tutkimiseen in vitro. Preosteoblastisolutyyppinä MC3T3-E1 Subclone 14 -soluilla on fibroblastimorfologia, ja ne ovat ensisijaisesti yhteydessä calvaria-alueelta peräisin olevaan luukudokseen. Yksi MC3T3-E1 Subclone 14 -solujen merkittävistä ominaisuuksista on niiden kyky erilaistua osteoblasteiksi ja osteosyyteiksi. Koska nämä solut muistuttavat morfologisesti ja toiminnallisesti paljon primaarisia calvariaalisia osteoblasteja, ne tarjoavat luotettavan alustan solunulkoisen matriksin (ECM) signaalien ja osteoblastien erilaistumiseen liittyvän käyttäytymisen tutkimiseen. Kun MC3T3-E1 Subclone 14 -soluja viljellään askorbiinihapolla ja epäorgaanisella fosfaatilla optimaalisissa pitoisuuksissa (3-4 mM), ne osoittavat huomattavaa osteoblastien erilaistumista. Jo kymmenen päivän kuluttua ne muodostavat hyvin mineralisoituneen ECM:n, mikä antaa tutkijoille mahdollisuuden tutustua luukudoksen muodostumisen monimutkaiseen prosessiin. Lisäksi näiden solujen on havaittu erittävän kollageenia, joka on luukudoksen olennainen osa, ja ne ilmentävät RNA:na hiiren leukemiaa estävää tekijää (MIF). Tällaiset ominaisuudet lisäävät niiden merkitystä luun kehitykseen ja homeostaasiin liittyvien erilaisten biologisten prosessien tutkimisessa. MC3T3-E1 Subclone 14 -solulinjaa on käytetty myös huippututkimuksessa. Sitä on esimerkiksi hyödynnetty ehdotettaessa aktiinifilamenttien sytoskelettiä koskevaa analyysikehystä, joka tarjoaa tietoa osteoblastien monimutkaisesta solunsisäisestä arkkitehtuurista. Lisäksi tutkijat ovat selvittäneet biohajoavan magnesiumin ja magnesiumseosten vaikutuksia näihin soluihin tutkimalla niiden vuorovaikutusta eri materiaalien kanssa ja niiden vaikutusta valittuihin solun ominaisuuksiin. Monipuolisten sovellustensa ansiosta nämä solut ovat korvaamattomia 3D-soluviljelytutkimuksissa, sillä ne tarjoavat realistisen in vitro -mallin osteoblastien käyttäytymisen ja erilaistumisen tutkimiseen kolmiulotteisessa ympäristössä. Niiden merkitys ulottuu useille tutkimusaloille, kuten kudostekniikkaan, luun uudistamiseen ja luustoon liittyvien sairauksien hoitotoimenpiteiden kehittämiseen.
Organism	Hiiri
Tissue	Luu, calvaria
Applications	3D-soluviljely, erilaistumistutkimukset
Synonyms	MC3T3-E1 ALAKLOONI 14

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	C57BL/6

MC3T3-E1-alaklooni 14 solut | 305185

Age	Vastasyntynyt
Gender	Määrittelemätön
Morphology	Fibroblastit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	MC3T3-E1-aliklooni 14 (Cytion-tuotenumero 305185)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5437

Biomolekyylitiedot

Protein expression	Kollageeni
Tumorigenic	Kyllä

Käsittely

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w: ribonukleosidit, w: deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaatti, w: 2,2 g/l NaHCO3, w/o: Askorbiinihappo (GIBCO, luettelo nro A1049001. Emme toimita tätä tuotetta; harkitkaa muita toimittajia. Ilmoittakaa meille, jos tarvitsette lisäapua)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase

MC3T3-E1-alaklooni 14 solut | 305185

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

MC3T3-E1-alaklooni 14 solut | 305185

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.