

MC3T3-E1 ląstelės | 305187

Bendra informacija

Description

MC3T3-E1 yra preosteoblastinių ląstelių linija, gauta iš pelės embriono kalvarijų. Šios ląstelės plačiai naudojamos osteogenezei tirti, ypač tiriant molekulinis ir ląstelinius kaulų formavimosi ir diferenciacijos mechanizmus. MC3T3-E1 ląstelių linija pasižymi dideliu gebėjimu in vitro diferencijuotis į osteoblastus, o šį procesą galima skatinti askorbo rūgštimi ir beta-glicerofosfatu. Diferenciacija pasižymi pagrindinių osteogeninių žymenų, tokių kaip šarminė fosfatazė, osteokalcinas ir I tipo kolagenas, raiška.

MC3T3-E1 ląstelės yra labai svarbios atliekant kaulų biologijos tyrimus, įskaitant kaulinio matrikso nusėdimo ir mineralizacijos tyrimus. Šios ląstelės yra patikimas modelis tiriant įvairių vaistų, hormonų ir genetinių modifikacijų poveikį osteoblastų funkcijai ir kaulų formavimuisi. Be to, MC3T3-E1 ląstelių linija vertinga tiriant patologines būkles, pavyzdžiui, osteoporozę ir kitas su kaulais susijusias ligas. Dėl lengvo kultivavimo ir gerai apibūdinto atsako į osteogeninius dirgiklius jas renkasi tyrėjai, siekiantys išsiaiškinti sudėtingas kaulų fiziologijos ir patologijos problemas.

Organism Pelė

Tissue Kaulas, kalvarija

Applications Osteoblastų diferenciacija in vitro

Synonyms Mc3T3-E1, MC3T3-E1, MC-3T3-E1, MC 3T3-E1

Charakteristikos

Breed/Subspecies C57BL/6

Age 1 diena

Gender Nenustatyta

Morphology Į fibroblastus panašus

Cell type Osteoblastai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation MC3T3-E1 (Cytion katalogo numeris 305187)

MC3T3-E1 ląstelės | 305187

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0409

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic Taip, su imunodeficitinėmis pelėmis

Products Kolagenas

Tvarkymas

Culture Medium Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilus glutaminas, w: Ribonukleozidai, w: Deoksiribonukleozidai, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w/o: Askorbo rūgštis (GIBCO, katalogo Nr. Šio produkto netiekiamo; prašome apsvarstyti kitų tiekėjų galimybes. Praneškite mums, jei reikia papildomos pagalbos.)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24-48 valandos

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MC3T3-E1 ląstelės | 305187

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MC3T3-E1 ląstelės | 305187

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.