

MC3T3-E1 šūnas | 305187

Vispārīga informācija

Description

MC3T3-E1 ir pirmsosteoblastisko šūnu līnija, kas iegūta no peles embrija kalvārijas. Šīs šūnas tiek plaši izmantotas osteogēnēzes pētījumos, jo īpaši, lai izpētītu molekulāros un šūnu mehānismus, kas ir kaulu veidošanās un diferenciacijas pamatā. MC3T3-E1 šūnu līnija ir pazīstama ar savu spēcīgo spēju in vitro diferencēties osteoblastos, un šo procesu var stimulēt ar askorbīnskābi un beta-glicerofosfātu. Šai diferenciacijai raksturīga galveno osteogēno marķieru, piemēram, sārmainās fosfatāzes, osteokalcīna un I tipa kolagēna, ekspresija.

MC3T3-E1 šūnas ir noderīgas pētījumos, kas vērsti uz kaulu bioloģiju, tostarp kaulu matricas izgulsnēšanos un mineralizāciju. Šīs šūnas ir uzticams modelis dažādu zāļu, hormonu un ģenētisko modifikāciju ietekmes uz osteoblastu funkciju un kaulu veidošanos izpētei. Turklāt MC3T3-E1 šūnu līnija ir vērtīga, pētot patoloģiskus stāvokļus, piemēram, osteoporozī un citas ar kauliem saistītas slimības. Tās ir viegli kultivējamas un labi raksturojama reakcija uz osteogēniskajiem stimuliem, tāpēc tās ir ieteicama izvēle pētniekiem, kuru mērķis ir atklāt kaulu fizioloģijas un patoloģijas sarežģītību.

Organism Pele

Tissue Kauls, kauls

Applications Osteoblastu diferenciacija in vitro

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

Raksturojums

Breed/Subspecies C57BL/6

Age 1 diena

Gender Nav norādīts

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Cell type Osteoblasts

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation MC3T3-E1 (Cytion kataloga numurs 305187)

MC3T3-E1 šūnas | 305187

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0409**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** Jā, imūndeficītām pelēm**Products** Kolagēns**Darbs ar****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: Ribonukleozīdi, w: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w/o: Askorbīnskābe (GIBCO, kataloga Nr. A1049001. Mēs nepiegādājam šo produktu; lūdzu, apsveriet citus piegādātājus. Lūdzu, informējiet mūs, ja jums nepieciešama papildu palīdzība.)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 līdz 48 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

MC3T3-E1 šūnas | 305187

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MC3T3-E1 šūnas | 305187

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.