

Komórki MC3T3-E1 | 305187**Informacje ogólne****Description**

MC3T3-E1 to przedosteoblastyczna linia komórkowa pochodząca z kalwarii zarodka myszy. Komórki te są szeroko wykorzystywane w badaniach nad osteogenezą, w szczególności do badania molekularnych i komórkowych mechanizmów leżących u podstaw tworzenia i różnicowania kości. Linia komórkowa MC3T3-E1 jest znana ze swojej silnej zdolności do różnicowania się w osteoblasty in vitro, proces ten może być stymulowany przez kwas askorbinowy i beta-glicerofosforan. Różnicowanie to charakteryzuje się ekspresją kluczowych markerów osteogennych, takich jak fosfataza alkaliczna, osteokalcyna i kolagen typu I.

Komórki MC3T3-E1 odgrywają kluczową rolę w badaniach nad biologią kości, w tym w badaniach nad odkładaniem i mineralizacją macierzy kostnej. Komórki te stanowią niezawodny model do badania wpływu różnych leków, hormonów i modyfikacji genetycznych na funkcję osteoblastów i tworzenie kości. Dodatkowo, linia komórkowa MC3T3-E1 jest cenna w badaniu stanów patologicznych, takich jak osteoporoza i inne choroby związane z kością. Łatwość hodowli i dobrze scharakteryzowana odpowiedź na bodźce osteogenne sprawiają, że są one preferowanym wyborem dla naukowców dążących do rozwikłania złożoności fizjologii i patologii kości.

Organism

Mysz

Tissue

Kość, kalwaria

Applications

Różnicowanie osteoblastów in vitro

Synonyms

Mc3T3-E1, MC3T3E1, MC-3T3-E1, MC 3T3-E1

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Age

1 dzień

Gender

Nieokreślony

Morphology

Podobny do fibroblastów

Cell type

Osteoblast

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki MC3T3-E1 | 305187**Citation** MC3T3-E1 (numer katalogowy Cytion 305187)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0409**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak, u myszy z niedoborem odporności**Products** Kolagen**Obsługa****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2.0 mM stabilna Glutamina, w: Rybonukleozydy, w: Deoksyrybonukleozydy, w: 1.0 mM Pirogronian sodu, w: 2.2g/L NaHCO₃, w/o: Kwas askorbinowy (GIBCO, nr katalogowy A1049001. Nie dostarczamy tego produktu; prosimy o rozważenie innych dostawców. Jeśli potrzebujesz dalszej pomocy, daj nam znać)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 do 48 godzin**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki MC3T3-E1 | 305187

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MC3T3-E1 | 305187

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.