

Komórki podklonu 24 MC3T3-E1 | 305186**Informacje ogólne****Description**

Komórki MC3T3-E1 Subclone 24 wyraźnie reprezentują typ komórek preosteoblastycznych, który odgrywa kluczową rolę w tworzeniu kości. Morfologicznie wykazują one wygląd podobny do fibroblastów, charakteryzujący się wydłużonym kształtem i wrzecionowatymi strukturami. Ten konkretny podklon pochodzi z tkanki kalwarii, regionu czaszki przyczyniającego się do tworzenia kości. Jednym z kluczowych zastosowań komórek podklonu 24 MC3T3-E1 jest hodowla komórkowa 3D, w której naukowcy mogą badać zachowanie i interakcje tych komórek w trójwymiarowym środowisku. Metoda ta oferuje bardziej fizjologiczny model niż tradycyjne dwuwymiarowe hodowle komórkowe, pozwalając na lepsze zrozumienie skomplikowanych procesów związanych z tworzeniem kości.

Chociaż komórki te mają wiele zalet, ważne jest, aby zwrócić uwagę na ich specyficzne cechy. Zaobserwowano, że komórki MC3T3-E1 Subclone 24 wykazują słabe różnicowanie osteoblastów pod wpływem kwasu askorbinowego, kluczowego składnika promującego wzrost komórek kostnych. Co więcej, nie tworzą one zmineralizowanej macierzy zewnątrzkomórkowej, co jest kluczowym etapem w tworzeniu tkanki kostnej. Czas podwojenia komórek MC3T3-E1 Subclone 24 wynosi około 90,5 godziny.

Organism Mysz**Tissue** Kość**Applications** hodowla komórek 3D, badania różnicowania**Charakterystyka****Breed/Subspecies** C57BL/6**Age** 1 dzień**Gender** Nieokreślony**Morphology** Fibroblast**Cell type** Osteoblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** Subklon 24 MC3T3-E1 (numer katalogowy Cytion 305186)

Komórki podklonu 24 MC3T3-E1 | 305186**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5438**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Receptor białka związanego z hormonem przytarczyc (PTHrP)**Protein expression** Kolagen, sialoproteina kostna (BSP), osteokalcyna (OCN), hormon przytarczyc (PTH)**Tumorigenic** Tak, u myszy z obniżoną odpornością**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** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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 podklonu 24 MC3T3-E1 | 305186**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 próbówki 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

Brak

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki podklonu 24 MC3T3-E1 | 305186

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.