

**Células MC3T3-E1 | 305187****Informações gerais****Description**

MC3T3-E1 é uma linha celular pré-osteoblástica derivada da calvária de um embrião de rato. Estas células são amplamente utilizadas no estudo da osteogênese, particularmente para examinar os mecanismos moleculares e celulares subjacentes à formação e diferenciação óssea. A linha celular MC3T3-E1 é conhecida pela sua capacidade robusta de se diferenciar em osteoblastos in vitro, um processo que pode ser estimulado por ácido ascórbico e beta-glicerofosfato. Esta diferenciação é marcada pela expressão de marcadores osteogénicos essenciais, como a fosfatase alcalina, a osteocalcina e o colagénio de tipo I.

As células MC3T3-E1 são fundamentais na investigação centrada na biologia óssea, incluindo o estudo da deposição e mineralização da matriz óssea. Estas células constituem um modelo fiável para investigar os efeitos de vários fármacos, hormonas e modificações genéticas na função dos osteoblastos e na formação óssea. Além disso, a linha celular MC3T3-E1 é valiosa no estudo de condições patológicas como a osteoporose e outras doenças relacionadas com os ossos. A facilidade de cultura e a resposta bem caracterizada aos estímulos osteogénicos fazem delas a escolha preferida dos investigadores que pretendem desvendar as complexidades da fisiologia e patologia ósseas.

**Organism** Rato**Tissue** Osso, calvária**Applications** Diferenciação de osteoblastos in vitro**Synonyms** Mc3T3-E1, MC3T3E1, MC-3T3-E1, MC 3T3-E1**Caraterísticas****Breed/Subspecies** C57BL/6**Age** 1 dia**Gender** Não especificado**Morphology** Tipo fibroblastos**Cell type** Osteoblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

**Células MC3T3-E1 | 305187****Citation** MC3T3-E1 (número de catálogo Cytion 305187)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0409**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratos imunodeficientes**Products** Colagénio**Manuseamento****Culture Medium** MEM alfa, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: Ribonucleósidos, com: Desoxirribonucleósidos, com: 1,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>, sem: Ácido ascórbico (GIBCO, N.º de catálogo A1049001. Não fornecemos este produto; considere outros fornecedores. Por favor, informe-nos se precisar de mais assistência)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 a 48 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células MC3T3-E1 | 305187

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células MC3T3-E1 | 305187

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.