

**Bunky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185****Všeobecné informácie****Description**

Bunky MC3T3-E1 Subclone 14 sú cenným zdrojom v biologickej vede, konkrétne pri štúdiu osteoblastov. Tieto bunky odvodené z kalvárie myší C57BL/6 boli starostlivo vybrané na základe ich vysokej aktivity alkalickej fosfatázy (ALP) v pokoji.

Táto jedinečná vlastnosť z nich robí ideálny model na skúmanie diferenciácie osteoblastov a tvorby kalcifikovaného kostného tkaniva in vitro. Bunky MC3T3-E1 Subclone 14 ako preosteoblastový typ buniek vykazujú morfológiu fibroblastov a sú primárne spojené s kostným tkanivom odvodeným z kalvárie.

Jednou z pozoruhodných vlastností buniek MC3T3-E1 Subclone 14 je ich schopnosť diferencovať sa na osteoblasty a osteocyty. Vďaka svojej rozsiahlej morfologickej a funkčnej podobnosti s primárnymi kalváriovými osteoblastami ponúkajú tieto bunky spoľahlivú platformu na štúdium signalizácie extracelulárnej matrix (ECM) a správania spojeného s diferenciáciou osteoblastov.

Pri kultivácii s kyselinou askorbovou a anorganickým fosfátom v optimálnych koncentráciách (3 až 4 mM) vykazujú bunky MC3T3-E1 Subclone 14 pozoruhodnú úroveň diferenciácie osteoblastov. Už po desiatich dňoch vytvárajú dobre mineralizovanú ECM, čo výskumníkom poskytuje pohľad do zložitého procesu tvorby kostného tkaniva.

Okrem toho sa zistilo, že tieto bunky vylučujú kolagén, základnú zložku kostného tkaniva, a exprimujú inhibičný faktor myšej leukémie (MIF) v RNA. Tieto vlastnosti ďalej prispievajú k ich významu pri skúmaní rôznych biologických procesov súvisiacich s vývojom a homeostázou kostí. Bunková línia MC3T3-E1 Subclone 14 sa tiež využíva v špičkovom výskume.

Bola napríklad využitá na návrh rámca analýzy cytoskeletu aktínových vlákien, ktorý ponúka pohľad na komplexnú vnútrobunkovú architektúru osteoblastov. Okrem toho výskumníci skúmali účinky biodegradovateľného horčíka a horčíkových zliatin na tieto bunky, pričom skúmali ich interakcie s rôznymi materiálmi a ich vplyv na vybrané bunkové vlastnosti.

Vďaka ich rôznorodému použitiu sú tieto bunky neoceniteľné v štúdiách 3D bunkových kultúr, ktoré poskytujú realistický in vitro model na skúmanie správania a diferenciácie osteoblastov v trojrozmernom prostredí. Ich význam sa rozširuje na rôzne oblasti výskumu vrátane tkanivového inžinierstva, regenerácie kostí a vývoja terapeutických zásahov pri poruchách súvisiacich s kosťami.

**Organism** Myš**Tissue** Kosť, kalvária**Applications** 3D bunkové kultúry, diferenciačné štúdie**Synonyms** MC3T3-E1 SUBKLON 14**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6

**Bunky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185****Age** Novorodenec**Gender** Nešpecifikované**Morphology** Fibroblasty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** MC3T3-E1 Subklon 14 (katalógové číslo Cytion 305185)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5437**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Kolagén**Tumorigenic** Áno**Spracovanie****Culture Medium** Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: Ribonukleozidy, w: Deoxyribonukleozidy, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w/o: Kyselina askorbová (GIBCO, katalógové číslo A1049001. Tento výrobok nedodávame; zvážte prosím iných dodávateľov. Ak potrebujete ďalšiu pomoc, dajte nám prosím vedieť.)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Bunky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185**

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstredujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

## Bunky subklonu 14 MC3T3-E1 | 305185

**Flask Coating**      Žiadne

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

**Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.