

**Bunky subklonu 24 MC3T3-E1 | 305186****Všeobecné informácie****Description**

Bunky MC3T3-E1 Subclone 24 vyslovene predstavujú typ buniek preosteoblastov, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu pri tvorbe kostí. Morfológicky vykazujú vzhľad podobný fibroblastom, charakterizovaný ich predĺženým tvarom a vretenovitými štruktúrami. Tento konkrétny podklón pochádza z tkaniva kalvárie, oblasti lebky, ktorá sa podieľa na tvorbe kostí. Jedno z rozhodujúcich využití buniek subklonu 24 MC3T3-E1 spočíva v 3D bunkovej kultúre, kde môžu výskumníci študovať správanie a interakcie týchto buniek v trojrozmernom prostredí. Táto metóda ponúka fyziologicky relevantnejší model ako tradičné dvojrozmerné bunkové kultúry, čo umožňuje lepšie pochopiť zložité procesy, ktoré sa podieľajú na tvorbe kostí.

Hoci tieto bunky majú množstvo výhod, je dôležité si všimnúť ich špecifické vlastnosti. Bolo pozorované, že bunky subklonu 24 MC3T3-E1 vykazujú slabú diferenciáciu osteoblastov, keď sú vystavené pôsobeniu kyseliny askorbovej, ktorá je kľúčovou zložkou na podporu rastu kostných buniek. Okrem toho netvorí mineralizovanú extracelulárnu matrix, čo je kľúčový krok pri tvorbe kostného tkaniva. Čas zdvojenia buniek MC3T3-E1 Subclone 24 je približne 90,5 hodiny.

**Organism** Myš**Tissue** Kosti**Applications** 3D bunkové kultúry, diferenciačné štúdie**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6**Age** 1 deň**Gender** Nešpecifikované**Morphology** Fibroblasty**Cell type** Osteoblasty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** MC3T3-E1 subklon 24 (katalógové číslo Cytion 305186)**Biosafety level** 1

**Bunky subklonu 24 MC3T3-E1 | 305186**

NCBI\_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL\_5438

**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Receptor pre proteín príbuzný parathormónu (PTHrP)**Protein expression** Kolagén, kostný sialoproteín (BSP), osteokalcín (OCN), parathormón (PTH)**Tumorigenic** Áno, u imunosuprimovaných myší**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; zväžte prosím iných dodávateľov. Ak potrebujete ďalšiu pomoc, dajte nám prosím vedieť.)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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.

## Bunky subklonu 24 MC3T3-E1 | 305186

### 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 odstreďujte 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.

### 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.

## Bunky subklonu 24 MC3T3-E1 | 305186

### 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 mykoplazmiem založených na luminiscencii.

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