

## Celice podklona 14 MC3T3-E1 | 305185

### Splošne informacije

#### Description

Celice MC3T3-E1 subklon 14 so dragocen vir v biološki znanosti, zlasti pri preučevanju osteoblastov. Te celice, pridobljene iz kalvarije miši C57BL/6, so bile skrbno izbrane na podlagi njihove visoke aktivnosti alkalne fosfataze (ALP) med mirovanjem.

Zaradi te edinstvene lastnosti so idealen model za preučevanje diferenciacije osteoblastov in nastajanja kalcificiranega kostnega tkiva in vitro. Celice MC3T3-E1 subklona 14 kot preosteoblastni tip celic imajo morfologijo fibroblastov in so primarno povezane s kostnim tkivom, pridobljenim iz kalvarije.

Ena od pomembnih značilnosti celic MC3T3-E1 Subclone 14 je njihova sposobnost diferenciacije v osteoblaste in osteocite. Zaradi velike morfološke in funkcionalne podobnosti s primarnimi kalvarijskimi osteoblasti te celice ponujajo zanesljivo platformo za preučevanje signalizacije zunajceličnega matriksa (ECM) in vedenja, povezanega z diferenciacijo osteoblastov.

Pri gojenju z askorbinsko kislino in anorganskim fosfatom v optimalnih koncentracijah (3 do 4 mM) celice MC3T3-E1 Subclone 14 izkazujejo izjemno stopnjo diferenciacije osteoblastov. Že po desetih dneh tvorijo dobro mineraliziran ECM, kar raziskovalcem omogoča vpogled v zapleten proces nastajanja kostnega tkiva.

Poleg tega je bilo ugotovljeno, da te celice izločajo kolagen, ki je bistvena sestavina kostnega tkiva, in v RNK izražajo zaviralni faktor mišje levkemije (MIF). Takšne lastnosti še dodatno prispevajo k njihovi pomembnosti pri raziskovanju različnih bioloških procesov, povezanih z razvojem in homeostazo kosti. Celična linija MC3T3-E1 Subclone 14 je bila uporabljena tudi v najsodobnejših raziskavah.

Uporabljena je bila na primer za predlog okvira za analizo citoskeleta aktinskih filamentov, ki omogoča vpogled v kompleksno znotrajcelično arhitekturo osteoblastov. Poleg tega so raziskovalci raziskali učinke biorazgradljivega magnezija in magnezijevih zlitin na te celice, preučevali njihove interakcije z različnimi materiali in njihov vpliv na izbrane celične lastnosti.

Zaradi svoje raznolike uporabe so te celice neprecenljive v študijah 3D-celičnih kultur, saj zagotavljajo realističen in vitro model za preučevanje obnašanja in diferenciacije osteoblastov v tridimenzionalnem okolju. Njihov pomen se razteza na različna raziskovalna področja, vključno s tkivnim inženiringom, regeneracijo kosti in razvojem terapevtskih posegov za bolezni, povezane s kostmi.

#### Organism

Miška

#### Tissue

Kost, kalvarija

#### Applications

3D celična kultura, Diferencijske študije

#### Synonyms

MC3T3-E1 PODKLON 14

### Značilnosti

#### Breed/Subspecies

C57BL/6

**Celice podklona 14 MC3T3-E1 | 305185****Age** Novorojenček**Gender** Neopredeljeno**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** MC3T3-E1 podklon 14 (kataloška številka Cytion 305185)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5437**Biomolekularni podatki****Protein expression** Kolagen**Tumorigenic** Da**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: Ribonukleozidi, w: Deoksiribonukleozidi, w: 1,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w/o: Askorbinska kislina (GIBCO, kat. št. A1049001. Tega izdelka ne dobavljamo; prosimo, upoštevajte druge dobavitelje. Če potrebujete dodatno pomoč, nam to sporočite.)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Celice podklona 14 MC3T3-E1 | 305185**

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

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

## Celice podklona 14 MC3T3-E1 | 305185

**Flask Coating** Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.