Product sheet

Клітини субклону MC3T3-E1 14 | 305185

Загальна інформація

Description	Клітини MC3T3-E1 субклону 14 є цінним ресурсом у біологічній науці, зокрема у вивченні остеобластів. Ці клітини, отримані з кальварії мишей лінії C57BL/6, були ретельно відібрані на основі їх високої активності лужної фосфатази (ALP) у стані спокою. Ця унікальна характеристика робить їх ідеальною моделлю для дослідження диференціювання остеобластів і формування кальцинованої кісткової тканини in vitro. Як преостеобластний тип клітин, клітини MC3T3-E1 субклону 14 демонструють морфологію фібробластів і в першу чергу асоціюються з кістковою тканиною, отриманою з литкових кісток. Однією з важливих особливостей клітин субклону 14 MC3T3-E1 є їх здатність диференціюватися в остеобласти та остеоцити. Завдяки значній морфологічній та функціональній схожості з первинними кальваріальними остеобластами ці клітини є надійною платформою для вивчення сигналізації та поведінки позаклітинного матриксу (ECM), пов'язаної з диференціюванням остеобластів. При культивуванні з аскорбіновою кислотою та неорганічним фосфатом в оптимальних концентраціях (від 3 до 4 мМ) клітини MC3T3-E1 субклону 14 демонструють чудовий рівень диференціювання остеобластів. Вже через десять днів вони утворюють добре мінералізований ECM, що відкриває дослідникам вікно в складний процес формування кісткової тканини. Крім того, було виявлено, що ці клітини секретують колаген, важливий компонент кісткової тканини, і експресують фактор інгібування лейкемії мишей (MIF) в РНК. Такі характеристики ще більше підвищують їх актуальність у дослідженні різних біологічних процесів, пов'язаних з розвитком та гомеостазом кісткової тканини. Клітинна лінія MC3T3-E1 субклону 14 також використовується в сучасних дослідженнях. Наприклад, на її основі було запропоновано концепцію аналізу цитоскелету актинових філаментів, що дає змогу зрозуміти складну внутрішньоклітинну архітектуру остеобластів. Крім того, дослідники вивчали вплив біорозкладного магнію і магнієвих сплавів на ці клітини, досліджуючи їхню взаємодію з різними матеріалами та вплив на окремі властивості клітин. Завдяки своєму різноманітному застосуванню ці клітини є безцінними в дослідженнях 3D-культур клітин, забезпечуючи реалістичну модель in vitro для вивчення поведінки та диференціації остеобластів у тривимірному середовищі. Їх актуальність поширюється на різні галузі досліджень, включаючи тканинну інженерію, регенерацію кісток і розробку терапевтичних втручань для лікування захворювань, пов'язаних з кістковою тканиною.
Organism	Миша
Tissue	Кістка, кальварія
Applications	3D-культура клітин, Дослідження диференціації
Synonyms	MC3T3-E1 СУБКЛОН 14

Характеристики

Product sheet

Клітини субклону MC3T3-E1 14 | 305185

Breed/Subspecies	C57BL/6
Age	Новонароджений
Gender	Не визначено
Morphology	Фібробласт
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	Субклон 14 MC3T3-E1 (номер у каталозі Cytion — 305185)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5437

Біомолекулярні дані

Protein expression	Колаген
Tumorigenic	Так

Обробка

Culture Medium	Альфа MEM, w: 2,0 мМ стабільний глутамін, w: рибонуклеозиди, w: дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 мМ піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO3, w/o: Аскорбінова кислота (GIBCO, каталожний номер A1049001. Ми не постачаємо цей продукт; будь ласка, зверніться до інших постачальників. Будь ласка, дайте нам знати, якщо вам потрібна подальша допомога)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза

Клітини субклону MC3T3-E1 14 | 305185

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини субклону MC3T3-E1 14 | 305185

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Hi
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.