

Células do subclone 24 de MC3T3-E1 | 305186**Informações gerais****Description**

As células do subclone 24 do MC3T3-E1 representam expressamente um tipo celular de pré-osteoblasto, que desempenha um papel crucial na formação óssea. Morfologicamente, elas apresentam uma aparência semelhante à dos fibroblastos, caracterizada por sua forma alongada e estruturas fusiformes. Esse subclone específico é derivado do tecido da calvária, uma região do crânio que contribui para a formação óssea. Uma das principais aplicações das células do subclone 24 da linha MC3T3-E1 está na cultura celular 3D, na qual os pesquisadores podem estudar o comportamento e as interações dessas células em um ambiente tridimensional. Esse método oferece um modelo fisiologicamente mais relevante do que as culturas celulares bidimensionais tradicionais, permitindo uma melhor compreensão dos processos complexos envolvidos na formação óssea.

Embora essas células possuam inúmeras vantagens, é importante observar suas características específicas. Observou-se que as células do subclone 24 do MC3T3-E1 apresentam baixa diferenciação osteoblástica quando expostas ao ácido ascórbico, um componente essencial para promover o crescimento das células ósseas. Além disso, elas não formam uma matriz extracelular mineralizada, etapa crucial na formação do tecido ósseo. O tempo de duplicação das células do subclone 24 da linha MC3T3-E1 é de aproximadamente 90,5 horas.

Organism

Mouse

Tissue

Osso

Applications

Cultura celular 3D, Estudos de diferenciação

Características**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Age

1 dia

Gender

Não especificado

Morphology

Fibroblasto

Cell type

Osteoblasto

Growth properties

Aderente

Dados regulatórios**Citation**

Subclone 24 do MC3T3-E1 (número de catálogo da Cytion 305186)

Células do subclone 24 de MC3T3-E1 | 305186

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5438

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Receptor da proteína relacionada ao hormônio paratireóideo (PTHrP)
Protein expression	Colágeno, sialoproteína óssea (BSP), osteocalcina (OCN), hormônio paratireóideo (PTH)
Tumorigenic	Sim, em camundongos imunossuprimidos

Manuseio

Culture Medium	Alpha MEM, p/v: 2,0 mM de glutamina estável, p/v: ribonucleosídeos, p/v: desoxirribonucleosídeos, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio, p/v: 2,2 g/L de NaHCO ₃ , p/v: Ácido ascórbico (GIBCO, nº de catálogo A1049001. Não fornecemos este produto; considere outros fornecedores. Entre em contato conosco caso precise de mais ajuda.)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células do subclone 24 de MC3T3-E1 | 305186**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

**Shipping
Conditions**

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células do subclone 24 de MC3T3-E1 | 305186

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.