

小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14

产品货号	产品名称	规格
EC-MC3T3-E1subclone14	小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14	1x10 ⁶

细胞介绍：

从克隆的但是表型各异的 MC3T3-E1 细胞系中分离出一系列亚克隆。从含抗坏血酸培养基生长的成骨细胞中选择高或低成骨细胞分化、矿化的亚克隆。MC3T3 亚克隆 4 和 MC3T3 亚克隆 14 在抗坏血酸和 3 到 4mM 无机磷酸盐中生长表现出高水平的成骨细胞分化。它们 10 天后形成一个矿化良好的细胞外基质 (ECM)。MC3T3 亚克隆 24 和 MC3T3 亚克隆 30 在抗坏血酸中生长表现出很差的成骨细胞分化。不形成 ECM，可以作为亚克隆 4 和 14 的阴性对照。矿化的亚克隆选择的表达作为成骨细胞标记的 mRNA，及唾液酸糖蛋白(BSP)，骨钙素(OCN)，和甲状旁腺激素/甲状旁腺激素相关蛋白受体的 mRNA。高或者低分化潜能的亚克隆在培养中生产出相似数量的胶原质，表达可比较的基本水平的 mRNA 编码 Osf2/Cbfa1，一种成骨细胞相关转录因子。植入免疫缺陷小鼠以后，高分化性的亚克隆形成与骨类似的形成小骨的编织骨，低分化细胞只是产生纤维组织。这些细胞系是研究体外成骨细胞分化的好模型，尤其是 ECM 信号。它们和原代培养颅顶成骨细胞的行为类似。

细胞特性：

- 来源：小鼠、颅顶骨
- 形态：成纤维细胞，贴壁生长
- 含量：>1x10⁶ 细胞数
- 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 用途：仅供科研使用。

运输和保存：干冰运输及复苏好存活细胞：

- 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
- T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理：

- 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃培养箱放置约 2-3h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
- 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 贴壁细胞：细胞在 37℃培养箱中放置 2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基 6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。
- 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1：2 传代。

一．培养基及培养冻存条件准备：

- （1）准备 MEM α 基础培养基 89%、优质胎牛血清 10%、NaHCO₃1.5g/L、肌醇 43.2mg/L、叶酸 8.82mg/L、 β -巯基乙醇 7.8mg/L、P/S 青霉素-链霉素 1%。
- （2）培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37 摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。
- （3）冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。

二. 细胞处理：

(1) 冻存细胞的复苏：

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37°C 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

(2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53mMEDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)，置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间)，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。
3. 轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1:2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

(3) 细胞冻存:收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例；

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。
2. 1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项：

- 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。
- 本产品仅限于科研使用，不得用于医药、临床诊断或治疗、食品或化妆品等用途。
- 请勿存放于普通住宅区。
- 为了您的安全健康，请穿好实验服并佩戴一次性口罩和手套进行操作。
- 实验结果受多种因素影响，相关处理仅限于产品本身，不涉及其他赔偿。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话：13564444959

官网：www.followme-shop.com

地址：北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼



公众号



客服