

MC3T3-E1 Subclone 14 小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14

培养说明书

名称	MC3T3-E1 Subclone 14 小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14
种属	小鼠
组织来源	颅顶骨
生长特性	贴壁细胞
细胞形态	成纤维细胞样
背景描述	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-E1 Subclone 4 和 MC3T3-E1 Subclone 14 在抗坏血酸和 3-4mM 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-E1 Subclone 24 和 MC3T3-E1 Subclone 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 MC3T3-E1 Subclone 4 和 MC3T3-E1 Subclone 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。高或者低的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。
培养体系	MEM α +10% FBS+1% P/S
传代比例	1:3-1:4
换液频率	2~3 次/周
冻存条件	冻存液：55% 基础培养基+40%FBS+5%DMSO 温度：液氮
培养条件	95% Air;5% CO ₂ ;37° C
备注	建议收到细胞后，尽快更换新的培养液或传代

*本库的细胞系（株）仅用于科研工作，未经许可不得用于其他目的。

复苏细胞接收后如何处理

1. 收到细胞后，请及时检查并拍照记录是否瓶身破损或有无漏液，培养液是否混浊等，如有请及时反馈。
2. 用 75%酒精消毒瓶身，放 37℃培养箱中静置 2-4h 后，显微镜下观察细胞状态并拍照记录（所拍照片将作为后续售后依据）。
3. 若细胞生长密度超过 80%以上，可直接消化传代；若密度低于 80%时，移除细胞培养瓶内培养基，预留 8-10ml 原瓶培养基继续培养，直到细胞密度 80%左右再进行传代操作，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖。
4. 若有贴壁细胞漂浮的，可收集上清离心，将沉淀用新的培养基接种至新的培养瓶或培养皿中。
5. 建议收到当天不要消化处理，如果细胞长满 90%，可选择传代处理。
6. 若收到细胞异常时，请及时与我们联系，对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的，可跟我们的技术支持交流。

冻存细胞接收后如何处理

1. 干冰运输，收到细胞后立即转入-80℃冰箱短暂中转或直接复苏；
2. 收到细胞后，若发现干冰已经完全挥发、冻存管瓶盖破裂脱落，请及时拍照后与我们联系。

细胞培养基本步骤

1. 细胞传代：细胞密度达到 80-90%时即可传代培养
 - ①弃去培养上清，用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次；
 - ②加入 1-2ml 0.25%胰酶（T25 瓶），使胰酶覆盖整个瓶或皿，盖好放入 37℃培养箱消化；
 - ③1-2min 后，显微镜下观察细胞，若大部分细胞回缩且有少量细胞脱落，轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化；若细胞还是贴壁，放回培养箱继续消化至可以轻轻吹打下为止；
 - ④将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清；
 - ⑤用新鲜培养基重悬后加入培养瓶或皿中，T25 培养瓶加 6-8ml 培养基；
 - ⑥悬浮细胞直接离心收集，细胞沉淀重悬后分到新培养瓶中。
2. 细胞复苏：
 - ①将冻存管在 37℃温水中快速摇晃融化，时间 1min 左右，加入 4-5ml 培养基混匀。
 - ②在 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清，加 1-2ml 培养基吹匀，将细胞悬液加入培养瓶中，补加适量培养基。
3. 细胞冻存：待细胞生长状态良好时进行细胞冻存保种
 - ①弃去培养上清，用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次，加入 1ml 0.25%胰蛋白酶（T25 瓶）
 - ②1-2min 后，显微镜下观察细胞，大部分细胞回缩且有少量细胞脱落，轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化；
 - ③将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清，加 1ml 冻存液重悬细胞；
 - ④将冻存管放入程序降温盒，放入-80℃冰箱，4 小时后将冻存管转入液氮罐储存。