

小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14
(MC3T3E1 Subclone14)

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 (ATCC CRL-2593) 和 MC3T3 亚克隆 14 (ATCC CRL-2594) 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 (ATCC CRL-2595) 和 MC3T3 亚克隆 30 (ATCC CRL-2596) 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：颅顶骨
形态：成纤维细胞
含量： $>1 \times 10^6$ 个/mL
污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：(1) 干冰运输，收到后立即转入液氮冻存或直接复苏；(2) 存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途：仅供科研使用。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 准备 MEM a 培养基 (MEM a, GIBCO, 货号 12561-056); 北美胎牛血清 (United States, GIBCO, 货号 16000-044), 10%。
- 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%。
冻存液：90% 完全培养基，10% DMSO, 现用现配。液氮储存。

1. 复苏细胞：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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 100cm 皿中，加入约 8mL 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。
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，传代可参考以下方法：
弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
用 2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mMEDTA）于培养瓶中，置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟，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少量培养基终止消化。
按 6-8mL/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8mL 培养基的新皿中或者瓶中。
3. 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1mL 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项：

收到细胞后，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。

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。