

**MC3T3-E1 Subclone 14**
**小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14**
**使用说明书**

细胞名称 Cell name	MC3T3-E1 Subclone 14 小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14
货号 NO.	ZQ 0095
描述 Description	<p>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 <i>Osf2/Cbfa1</i>, 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。</p>
种属 Species	小鼠
组织来源 Tissue	颅顶骨
形态 Morphology	成纤维细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
培养基 Culture Medium	<p><b>推荐自配培养基:</b> MEM<math>\alpha</math>(含核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸) (中乔新舟 货号: ZQ-700-vc-free) +10%胎牛血清 (中乔新舟 货号: ZQ0500)+1%双抗 (中乔新舟 货号: CSP006) <b>MEM<math>\alpha</math>不含vc</b></p> <p><b>配套完全培养基:</b> (中乔新舟 货号: ZQ-720-VCF)</p> <p><b>温度:</b> 37°C</p> <p><b>气相:</b> 95%空气, 5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</p> <p>2.提前室温预热培养基。</p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基;</p> <p>2.将冻存管放入 37°C 水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立</p>

	<p>即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区；</p> <p>3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，<b>1000rpm 离心 5min</b>；</p> <p>4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开瓶盖，以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<p>收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>（一）细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，<b>若培养瓶上无特殊标注</b>，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2.加入 1.0ml 胰酶消化液，<b>37℃ 消化约 3min</b>，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</b></p> <p><b>2.推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液；</b></p> <p><b>3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b></p> <p><b>4.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</b></p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2.贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）</li> <li>3.悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）</li> <li>4.半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细</li> </ol>

胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）  
如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。