



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## MC3T3-E1 Subclone 14 (小鼠颅顶前骨细胞亚克隆14)

产品编号	产品名称	包装
C7397	MC3T3-E1 Subclone 14 (小鼠颅顶前骨细胞亚克隆14)	1支/瓶

### 产品简介:

Organism	Tissue	Morphology	Culture Properties
<i>Mus musculus, mouse</i>	Bone; Calvaria	Fibroblast	Adherent

### ➤ 本细胞株详细信息如下:

General Information	
Cell Line Name	MC3T3-E1 Subclone 14 (Mouse Calvarial Preosteoblast Cells, Subclone 14)
Synonyms	MC3T3-E1 SUBCLONE 14
Organism	<i>Mus musculus, mouse</i>
Tissue	Bone; Calvaria
Cell Type	preosteoblast
Morphology	Fibroblast
Disease	-
Strain	C57BL/6
Biosafety Level*	1
Age at Sampling	neonate
Gender	Sex unspecified
Genetics	-
Ethnicity	-
Applications	3D cell culture; These cell lines are good models for studying in vitro osteoblast differentiation, particularly ECM signaling. They have behavior similar to primary calvarial osteoblasts.
Category	Spontaneously immortalized cell line

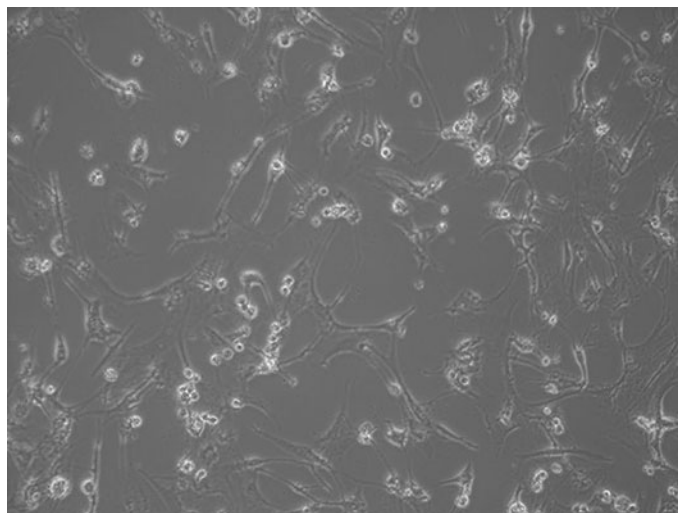
\* Biosafety classification is based on U.S. Public Health Service Guidelines, it is the responsibility of the customer to ensure that their facilities comply with biosafety regulations for their own country.

Characteristics	
Karyotype	-
Virus Susceptibility	-
Derivation	A series of subclones were isolated from the cloned but phenotypically heterogeneous MC3T3-E1 cell line.
Clinical Data	-
Antigen Expression	-
Receptor Expression	-
Oncogene	-
Genes Expressed	collagen
Gene expression databases	-
Metastasis	-
Tumorigenic	Yes

Effects	Yes, in immunodeficient mice (forms bone-like ossicles)
Comments	<p>The subclones were selected for high or low osteoblast differentiation and mineralization after growth in medium containing ascorbic acid.</p> <p>The MC3T3-E1 Subclone 4 (ATCC CRL-2593) and the MC3T3 Subclone 14 (ATCC CRL-2594) lines exhibit high levels of osteoblast differentiation after growth in ascorbic acid and 3 to 4 mM inorganic phosphate.</p> <p>They form a well mineralized extracellular matrix (ECM) after 10 days.</p> <p>The MC3T3 Subclone 24 (ATCC CRL-2595) and the MC3T3 Subclone 30 (ATCC CRL-2596) lines exhibit poor osteoblast differentiation after growth in ascorbic acid. They do not form ECM. They can be used as negative controls for Subclones 4 and 14. Mineralizing subclones selectively express mRNAs for the osteoblast markers, bone sialoprotein (BSP), osteocalcin (OCN), and the parathyroid hormone (PTH)/parathyroid hormone-related protein (PTHrP) receptor.</p> <p>Subclones with both high and low differentiation potential produce similar amounts of collagen in culture and express comparable basal levels of mRNA encoding <i>Osf2/Cbfa1</i>, an osteoblast-related transcription factor.</p> <p>After implantation into immunodeficient mice, highly differentiating subclones form bone-like ossicles resembling woven bone, while poorly differentiating cells only produce fibrous tissue.</p>

Culture Method	
Doubling Time	ca. 1-2 days
Methods for Passages	Wash by PBS once then 0.25% trypsin-EDTA solution and incubate at room temperature (or at 37°C), observe cells under an inverted microscope until cell layer is dispersed (usually within 1 to 5 minutes)
Medium	MEM $\alpha$ + 10% FBS, 推荐使用MC3T3-E1 Subclone 14细胞完全培养液(含血清等) (C7397C)。
Special Remarks	-
Medium Renewal	Every 2 to 3 days.
Subcultivation Ratio	1:6 to 1:8
Growth Condition	air, 95%; carbon dioxide (CO <sub>2</sub> ), 5%; 37°C
Freeze medium	MEM $\alpha$ + 20% FBS + 10% DMSO, 也可以订购碧云天的细胞冻存液(C0210)或BeyoAOF™无血清细胞冻存液(C0210B)。

- 本细胞株经过支原体检测(Mycoplasma test), 检测结果为阴性。
- 本细胞株经过物种鉴定, 鉴定结果为小鼠。
- 本细胞株的培养图片如下:



包装清单:

产品编号	产品名称	包装
------	------	----

C7397	MC3T3-E1 Subclone 14 (小鼠颅顶前骨细胞亚克隆14)	1支/瓶
—	产品说明书	1份

## 保存条件：

对于细胞培养瓶或离心管运输的活细胞，室温3-5天有效。对于干冰运输的冻存细胞，液氮保存，长期有效；-80°C保存，2个月有效。

## 注意事项：

- 本细胞株未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。使用者在发表研究论文或结果时，应注明细胞株的来源。
- 本细胞适合使用胎牛血清培养，推荐选购碧云天生产的MC3T3-E1 Subclone 14细胞培养血清(C7397F)，确保细胞株和血清之间有很好的兼容性。该血清经测试可以很好地用于MC3T3-E1 Subclone 14细胞的培养，细胞生长速度和生长形态良好。
- 本细胞的完全培养液可以自行配制，推荐选购碧云天生产的MC3T3-E1 Subclone 14细胞完全培养液(含血清等)(C7397C)，该培养液已经添加了优质胎牛血清和所需的添加剂如双抗以及细胞培养所必须的添加剂，可以直接使用，让细胞无须驯化就能正常生长。
- 本细胞株相关资料参考ATCC (American Type Culture Collection)、DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)、JCRB (Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank)、Cellosaurus (Swiss Institute of Bioinformatics)等网站信息，并结合碧云天实际培养信息综合而成。由于细胞培养的条件、代数等因素，实际细胞可能与本说明书提供的信息有一定的差异，具体以实际细胞为准。
- STR结果可以与ATCC、DSMZ及中国国家实验细胞资源共享平台等网站的数据库进行比对，匹配度80%以上即可认为该细胞系正确。
- 本产品会根据细胞是否正在培养、目的地距离等因素确定运输方式：冷冻的细胞冻存管(干冰)、一小瓶贴壁培养的细胞或一小瓶/管悬浮培养的细胞(常温)。为了更好地耐受长途运输和环境温度等变化，对于正常贴壁培养的细胞，也可能以悬浮的形式培养在细胞培养瓶或离心管中进行运输。
- 对于干冰运输的冻存细胞，若干冰已经完全融化，请立即将细胞复苏培养，切勿再次低温冻存；若尚留有干冰，请直接复苏培养或立即将含有细胞的冻存管放入液氮中保存待用，切不可将细胞置于高温环境。
- 收到冻存的细胞后请尽快复苏细胞进行培养，以确认细胞活力、状态并保种。如暂时不进行复苏操作，冻存细胞可在-80°C条件下保存2个月。
- 每支冻存管约含 $1 \times 10^6$ 个细胞，体积为0.5-1ml，预期存活率60-90%，建议复苏至1个6cm培养皿中。如果复苏后存活率较低，可以消化后转移至3.5cm培养皿中，这样细胞生长会更好。
- 如果本产品是常温运输，并且是培养瓶中充满完全培养液的贴壁细胞，收到细胞后请在显微镜下观察细胞生长状态，如果细胞密度超过85%请尽快进行传代操作；如果悬浮的细胞较多，请将培养瓶置于培养箱中静置过夜以使悬浮的细胞再次贴壁。如果收到的是常温运输的离心管装的悬浮细胞，可以直接取出转移至培养皿或培养瓶中培养。若培养液颜色正常则保留培养液继续培养，并且在首次更换培养液时，保留一半原培养液，并加入一半新鲜培养液，这样可以尽量避免由于培养液或血清差异导致细胞生长的不适应，确保细胞良好的生长状态。
- 细胞培养请在生物安全柜台中进行操作，并严格遵守无菌操作。
- 请在培养液中加入适量青霉素-链霉素溶液以防止可能的细菌污染，如碧云天的青霉素-链霉素溶液(100X)(C0222)。
- 理论上永生细胞可无限传代，但为了保证细胞的良好状态，建议最早培养的几代细胞就冻存一批，并每培养一段时间后复苏早期冻存的细胞进行培养。
- 接收、处理、保存、丢弃及使用细胞的时候要遵守相关法律法规，充分考虑可能存在的风险和责任，采取适当的安全和处理措施尽量降低对健康或环境的危害。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

### 1. 细胞株的复苏

- a. 将冻存管在37°C水浴锅中迅速完全融化(保持冻存管的盖子在液面以上以防止污染)，并适当轻轻摇晃促融，切勿vortex。快速、完全融化可以提高细胞的复苏效果。
- b. 打开冻存管前时用70%酒精擦拭细胞冻存管外壁，注意某些记号笔不耐酒精，小心标注的记号被擦拭掉。
- c. 将完全融化的细胞直接离心，或者转移至无菌1.5ml或其它合适无菌离心管中， $500 \times g$ 离心2-5分钟，吸除上清，注意不要吸走细胞沉淀，然后用新鲜完全培养液重悬后转移至培养器皿，混匀，置于CO<sub>2</sub>培养箱37°C培养。
- d. 第二天视贴壁或生长状态，更换培养液。

### 2. 贴壁细胞的常规传代流程

- a. 将细胞培养液、PBS等放入37°C水浴锅内预热。
- b. 以10cm细胞培养皿为例。吸出原培养皿中的培养液，用2-5ml无菌PBS润洗细胞1-2次以去除残留的血清(如果细胞贴壁较差，润洗时要轻柔以避免细胞飘起)，然后加1-2ml胰酶细胞消化液(含EDTA)室温消化，注意消化时间，通常为1-5分钟。如果细胞比较难消化，可以置于37°C细胞培养箱一定时间以加速消化。注：消化时间过长，会导致传代后细胞出现生长状态不良的情况。

- c. 每30秒-1分钟用显微镜观察细胞消化情况，贴壁细胞明显收缩、细胞间间隙变大、细胞趋于圆形但还未漂起，并用移液器吹打细胞发现细胞刚好可以被吹打下来时，吸除胰酶细胞消化液，再加入1-2ml新鲜完全培养液，适当晃动细胞皿以终止胰酶作用，用移液器轻轻吹打贴壁的细胞，获取细胞悬液。吹打时需控制力度，避免产生大量气泡，将细胞悬液分别接种到另外的2-5个细胞培养皿内，加入新鲜培养液，置于CO<sub>2</sub>培养箱37°C培养，第2天观察细胞贴壁生长情况。
- d. 也可以在消化后，加3-5ml完全培养液终止消化，用移液器轻轻吹打细胞悬液，尽量把细胞全部吹落、吹散，然后将全部细胞悬液500×g离心2-5分钟，离心后去上清，再用完全培养液重悬后转移到新的培养皿中，添加适量完全培养液，于CO<sub>2</sub>培养箱37°C培养。
- e. 注意培养液的酚红颜色变化或根据细胞的换液要求定期换液，待细胞密度达到80-90%时需要传代或者冻存。如果没有及时传代导致细胞过密，传代后细胞容易出现生长状态不良的情况。

### 3. 悬浮细胞的常规传代流程

- a. 将细胞悬液转移到无菌离心管内，500×g离心2-5分钟，弃去上清，加入新鲜的培养液，用吸管小心吹散沉淀，获取细胞悬液，将细胞悬液分别接种到另外的2-5个细胞瓶内，加入新鲜完全培养液，置于CO<sub>2</sub>培养箱37°C培养。
- b. 也可以取少量悬浮细胞直接转移到新的培养瓶中，添加适当的新鲜完全培养液，置于CO<sub>2</sub>培养箱37°C培养。
- c. 注意培养液的酚红颜色变化或根据细胞的换液要求定期换液，待细胞密度达到80-90%时可以考虑传代或者冻存。

### 4. 半贴壁半悬浮细胞的培养

- a. 若悬浮细胞较多且折光率良好，可离心收集，继续培养。
- b. 若仅有少量细胞悬浮，也可不用收集，传代操作按常规贴壁细胞操作流程处理。
- c. 若悬浮细胞较多，离心收集，原瓶中贴壁细胞按照常规贴壁细胞操作流程进行消化、终止消化、吹打，并与之前收集的悬浮细胞混合，接种到新的细胞培养皿中。

### 5. 细胞株的冻存

- a. 按照细胞传代方法收集细胞。
- b. 细胞计数：一般要求冻存的细胞，每毫升的细胞数量为1×10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup>个细胞。
- c. 取适当细胞悬液，500×g离心2-5分钟，弃上清，加入细胞冻存液，重悬，转移到冻存管中，用记号笔标记好细胞株名称、冻存日期、代数等信息，并记录在相应表格中以便管理和快速查找细胞位置。
- d. 将冻存管放入专用的细胞冻存盒中，-80°C过夜，然后转移至液氮罐中保存。如果没有专用的细胞冻存盒，可以按下面程序进行冻存：4°C 1小时，-20°C 2小时，-80°C过夜，然后转移至液氮罐中保存。冻存细胞储存在-80°C中通常不建议超过半年，时间太长会影响复苏效率。推荐使用碧云天的BeyoCool™细胞冻存盒(FCFC012)。
- e. 为保持细胞的良好状态，每隔1年，取出1-2支冻存的细胞复苏一次，并冻存新的细胞。

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C7397	MC3T3-E1 Subclone 14 (小鼠颅顶前骨细胞亚克隆14)	1支/瓶
C7397C	MC3T3-E1 Subclone 14细胞完全培养液(含血清等)	550ml
C7397F-50ml/500ml	MC3T3-E1 Subclone 14细胞培养血清	50ml/500ml
C0191-100ml/500ml	BeyoTryp™ Express Enzyme (1X, 含酚红, AOF)	100ml/500ml
C0192-100ml/500ml	BeyoTryp™ Express Enzyme (1X, 不含酚红, AOF)	100ml/500ml
C0193-100ml	BeyoTryp™ Express Enzyme (10X, 含酚红, AOF)	100ml
C0194-100ml	BeyoTryp™ Express Enzyme (10X, 不含酚红, AOF)	100ml
C0196-100ml/500ml	0.5M EDTA, pH8.0 (Sterile, Cell Culture Grade)	100ml/500ml
C0198-100ml	BeyoAOF™ 0.02% EDTA细胞解离液(Versene溶液)	100ml
C0201-100ml/500ml	胰酶细胞消化液(0.25%胰酶)	100ml/500ml
C0202	胰酶细胞消化液(0.05%胰酶)	100ml
C0203-100ml/500ml	胰酶细胞消化液(0.25%胰酶, 含酚红)	100ml/500ml
C0204	胰酶细胞消化液(0.05%胰酶, 含酚红)	100ml
C0205	胰酶细胞消化液(0.25%胰酶, 不含EDTA)	100ml
C0207	胰酶细胞消化液(0.25%胰酶, 含酚红, 不含EDTA)	100ml
C0208-100ml/500ml	BeyoAOF™重组胰酶细胞消化液(含酚红)	100ml/500ml
C0209-100ml/500ml	BeyoAOF™重组胰酶细胞消化液(不含酚红)	100ml/500ml
C0210	细胞冻存液	50ml
C0210B-50ml/200ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	50ml/200ml
C0211-100ml	L-Ala-Gln (100X)	100ml
C0212	L-Glutamine (100X)	100ml
C0215-100ml/500ml	HEPES Solution (1M, pH7.3, 细胞培养用)	100ml/500ml

C0217-100ml/500ml	HEPES Solution (1M, pH7.5, 细胞培养用)	100ml/500ml
C0218	Hanks' Balanced Salt Solution	500ml
C0219	Hanks' Balanced Salt Solution (with Ca <sup>2+</sup> & Mg <sup>2+</sup> )	500ml
C0220	7.5% NaHCO <sub>3</sub> 溶液	100ml
C0221A	PBS	500ml
C0221D	D-PBS	500ml
C0221G	D-PBS (with Ca <sup>2+</sup> & Mg <sup>2+</sup> )	500ml
C0222	青霉素-链霉素溶液(100X)	100ml
C0223-100ml	青霉素-链霉素-庆大霉素溶液(100X)	100ml
C0224-100ml	青霉素-链霉素-两性霉素B溶液(100X)	100ml
C0226	胎牛血清(Biowest原装, 产地南美)	500ml
C0226S	胎牛血清(Biowest分装, 产地南美)	50ml
C0229-1L	新生牛血清(AusgeneX原装, 产地新西兰)	1L
C0232	胎牛血清(Gibco原装, 产地南美)	500ml
C0234	胎牛血清(Gibco分装, 产地澳洲)	50ml
C0235	胎牛血清(Gibco原装, 产地澳洲)	500ml
C0237	胎牛血清(Gibco原装, 产地澳洲)	500ml
C0238	胎牛血清(Gibco原装, 产地澳洲)	500ml
C0251	胎牛血清(产地南美)	50ml
C0252	胎牛血清(产地南美)	500ml
C0258	新生牛血清(产地新西兰)	50ml
C0265	山羊血清	50ml
C0280S/M/L	Myco-Zero™支原体去除试剂	5次/20次/100次
C0283-500ml/2L	Myco-Zero™支原体去除喷雾剂	500ml/2L
C0285S/M/L	Myco-Zero™ Plus支原体去除试剂	50次/250次/1000次
C0288S/M	支原体清除试剂	20mg/100mg
C0290S/M	支原体清除试剂Plus	10mg/50mg
C0292-2ml/10ml	支原体预防去除试剂I	2ml/10ml
C0293-2ml/10ml	支原体预防去除试剂II	2ml/10ml
C0296	支原体染色检测试剂盒	>100次
C0297S/M	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)	20次/100次
C0298S/M	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用)	20次/100次
C0299S	Myco-Lumi™发光法支原体检测阳性对照	20次
C0301S	支原体PCR检测试剂盒	250次
C0303S/M	BeyoDirect™支原体qPCR检测试剂盒	100次/500次
C0305S/M	BeyoColor™支原体等温扩增变色检测试剂盒	25次/100次
FBX081	81孔液氮罐专用冻存盒	1个/包
FBX082	100孔液氮罐专用冻存盒	1个/包
FCFC012	BeyoCool™细胞冻存盒	1个/盒
ST857-100ml/500ml	BeyoClean™细胞培养箱用水抑菌剂(500X)	100ml/500ml
ST875-100ml/500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (细胞培养级)	100ml/500ml

Version 2023.08.30