

Allgemeine Informationen

Description MG-63-Zellen sind eine Art Osteoblasten-Zelllinie mit Fibroblastenmorphologie, die aus dem Knochen eines 14-jährigen weißen männlichen Patienten mit Osteosarkom isoliert wurde. Diese Zellen haben den Vorteil, dass sie hohe Interferonspiegel produzieren, wenn sie mit Polyinosäure-Polycytidylsäure, Cycloheximid und Actinomycin D superinduziert werden, und dass sie pro Quadratcentimeter Kulturfläche eine 3,7-fach höhere Ausbeute liefern als diploide Fibroblasten. MG-63-Zellen können auf verschiedenen Oberflächen wie Bioglassscheiben, Titanscheiben (Ti-6Al-4V) und Kobalt-Chrom-Legierungen (Co-Cr-Mo) ausgesät werden, was sie zu einem häufig verwendeten Osteoblastenmodell zur Untersuchung der Lebensfähigkeit, Adhäsion und Proliferation von Knochenzellen macht. Die Verdopplungszeit von MG-63-Zellen beträgt je nach Quelle 38 Stunden oder 28,3 Stunden. Diese Zellen exprimieren die Gene für Interferon und den transformierenden Wachstumsfaktor beta (TGF-beta) RI und RII. Wenn MG-63-Zellen gleichzeitig mit 1,26-Dihydroxyvitamin D3 (1,26D3) und dem transformierenden Wachstumsfaktor /3 (TGFB) behandelt werden, kann die alkalische Phosphatase-Aktivität um das 40-70-fache über dem Basalwert erhöht werden, was das Potenzial von MG-63-Zellen für die Untersuchung der Auswirkungen auf die Knochendifferenzierung zeigt. Im Vergleich zu anderen Osteosarkom-Zelllinien proliferieren MG-63-Zellen schnell, und ihre alkalische Phosphatase-Aktivität steigt nach der Verabreichung von 1,25-Dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)2D3) an, was sie für die Untersuchung humaner osteoblastenähnlicher Zellen im Hinblick auf die Regulation und Expression von Osteocalcin geeignet macht.

Organism Menschen

Tissue Knochen

Disease Osteosarkom

Metastatic site Knochen, linker Oberschenkelknochen

Synonyms M-G63, MG63

Merkmale

Age 14 Jahre

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Fibroblastenähnlich

Growth properties Adhärenz

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

MG-63 | 300441

Citation MG-63 (Cytion-Katalognummer 300441)

Biosafety level 1

Expression / Mutation

Receptors expressed Transformierender Wachstumsfaktor beta (TGF beta, Typ I und Typ II)

Products Interferon

Handhabung

Culture Medium DMEM:Ham's F12

Medium supplements 10% FBS, w: 3,1 g/L Glucose, w: 1,6 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃

Passaging solution Accutase

Subculturing Medium entfernen und die anhaftenden Zellen mit PBS ohne Kalzium und Magnesium spülen (3-5 ml PBS für T25-, 5-10 ml für T75-Zellkulturflaschen). Accutase zugeben (1-2 ml pro T25-, 2,5 ml pro T75-Zellkulturflasche), die Zellschicht muss vollständig bedeckt sein. Bei Raumtemperatur 8-10 Minuten lang inkubieren. Die Zellen vorsichtig mit Medium (10 ml) resuspendieren, 5 Minuten bei 300xg zentrifugieren, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Flaschen mit frischem Medium geben.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:8

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freezing recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit 5×10^4 Zellen/cm² plattieren und die Zellen mindestens 48 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

MG-63 | 300441

Handling of cryopreserved cultures

Die Zellen werden tiefgefroren auf Trockeneis versandt. Bitte stellen Sie sicher, dass das Fläschchen noch gefroren ist. Wenn eine sofortige Kultivierung nicht beabsichtigt ist, muss das Kryovial nach der Ankunft unter -150 Grad Celsius gelagert werden. Wenn eine sofortige Kultivierung beabsichtigt ist, befolgen Sie bitte die nachstehenden Anweisungen: Schnelles Auftauen durch schnelles Schütteln in einem 37 Grad Celsius warmen Wasserbad innerhalb von 40-60 Sekunden. Das Wasserbad sollte sauberes Wasser enthalten, das ein antimikrobielles Mittel enthält. Sobald die Probe aufgetaut ist, nehmen Sie das Kryovial aus dem Wasserbad. Es sollte noch ein kleiner Eisklumpen zurückbleiben und das Fläschchen sollte noch kalt sein. Von nun an sollten alle Operationen unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden. Überführen Sie das Kryovial in einen sterilen Durchflussschrank und wischen Sie es mit 70%igem Alkohol ab. Das Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium (Raumtemperatur) überführen. Die Zellen vorsichtig resuspendieren. Zentrifugieren Sie bei 300 x g für 3 Minuten und werfen Sie den Überstand. Der Zentrifugationsschritt kann ausgelassen werden, aber in diesem Fall müssen die Reste des Gefriermediums 24 Stunden später entfernt werden. Die Zellen vorsichtig in 10 ml frischem Zellkulturmedium resuspendieren und in zwei T25-Zellkulturflaschen überführen. Alle weiteren Schritte sind im Abschnitt Subkultur beschrieben.

Handling of proliferating cultures

Eine oder zwei Zellkulturflaschen werden mit Zellkulturmedium gefüllt. Fangen Sie das gesamte Medium in 1 bzw. 2 x 50 ml Zentrifugenröhrchen auf. Geben Sie vorsichtig 5 ml Zellkulturmedium in jede T25-Zellkulturflasche. Kontrollieren Sie die Zellmorphologie und den Konfluenzgrad unter dem Mikroskop. Mindestens 24 Stunden lang bei 37 Grad Celsius inkubieren. Schleudern Sie das gesammelte Medium 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen zu sammeln, die sich während des Transports abgelöst haben könnten. Wenn ein Zellpellet sichtbar ist, die Zellen in 5 ml Zellkulturmedium resuspendieren und in eine T25-Zellkulturflasche überführen. Bei 37 Grad Celsius mindestens 24 Stunden lang bebrüten.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Mykoplasmen-Kontaminationen werden durch PCR- und Lumineszenz-basierte Mykoplasmen-Assays ausgeschlossen. Das Nichtvorhandensein von Bakterien-, Pilz- oder Hefekontaminationen wird durch tägliche visuelle Zellüberwachung kontrolliert.

STR profile

CSF1PO: 10,12
D13S317: 11
D16S539: 11,12
D5S818: 11,12
D7S820: 10
TH01: 9,3
TPOX: 8,11
vWA: 16,19
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 16
Penta E: 11,12
Penta D: 9,13
D8S1179: 13
FGA: 21,25

MG-63 | 300441

HLA-Allele

- A*:** 01:01:01
- B*:** 08:01:01
- C*:** 07:01:01
- DRB1*:** 03:01:01
- DQA1*:** 05:01:01
- DQB1*:** 02:01:01
- DPB1*:** 01:01:01, 04:02:01
- E:** 01:01:01