

Buňky TM3 | 305167

Obecné informace

Description	Buňky TM3 jsou jedinečnou buněčnou linií odvozenou z 11 až 13 dní starých samčích Leydigových buněk myši, která vykazuje adherentní růstové vlastnosti. Tyto buňky nejsou nádorové, protože u imunosuprimovaných myší nezpůsobují nádory, ačkoli mohou vytvářet kolonie v polotuhém médiu. Exprimují gen pro prostaglandin F2a a vyznačují se několika expresními markery včetně luteinizačního hormonu (LH), epidermálního růstového faktoru (EGF) a pozitivních markerů pro androgenní, estrogenní a progesteronové receptory. Pozoruhodným rysem buněk TM3 je jejich reakce na LH, která vede ke zvýšení produkce cAMP; nereagují však na folikuly stimulující hormon (FSH). Udržení reaktivity na LH je závislé na množství séra. Kromě toho mohou tyto buňky v přítomnosti LH metabolizovat cholesterol. Byly testovány a shledány negativními na virus ektromelie (myší neštovice), což zajišťuje vysoký standard bezpečnosti pro laboratorní použití
Organism	Myš
Tissue	Testis
Disease	Normální Leydigovy buňky varlat (netumorogenní; myš BALB/c)
Metastatic site	Nevztahuje se (normální, netumorogenní testikulární buněčná linie)
Applications	Biologie Leydigových buněk; steroidogeneze ve varlatech; signální dráha LH/cAMP; výzkum receptorů pro androgeny, estrogeny a progesteron; citlivost na gonadotropiny; metabolismus cholesterolu; výzkum vývoje a funkce varlat
Synonyms	TM-3

Charakteristika

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	11 až 13 dní
Gender	Muži
Morphology	Epitelové
Cell type	Leydigovy buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Buňky TM3 | 305167

Citation	TM3 (katalogové číslo Cytion 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Bez genetické modifikace; myší buněčná linie Leydigových buněk divokého typu získaná z primární kultury varlat novorozných myší kmene BALB/c

Biomolekulární data**Zpracování**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 2,5 % FBS, 5 % koňského séra
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	přibližně 36 až 48 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 × 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky na kultivační misky v hustotě 5 × 10 ⁴ buněk/cm ² a před první výměnou média počkejte alespoň 24–48 hodin, aby se buňky přichytily. Udržujte citlivost na LH v závislosti na šarži séra tím, že u každé šarže FBS ověříte reakci cAMP na LH.

Buňky TM3 | 305167**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky TM3 | 305167

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.