

TM3-Zellen | 305167

Allgemeine Informationen

Description TM3-Zellen sind eine einzigartige Zelllinie, die aus 11 bis 13 Tage alten männlichen Leydig-Zellen der Maus gewonnen wird und adhärente Wachstumseigenschaften aufweist. Diese Zellen sind nicht tumorerzeugend, da sie in immunsupprimierten Mäusen keine Tumore verursachen, obwohl sie in halbfestem Medium Kolonien bilden können. Sie exprimieren das Gen für Prostaglandin F2a und zeichnen sich durch mehrere Expressionsmarker aus, darunter Luteinisierendes Hormon (LH), Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF) und positive Marker für Androgen-, Östrogen- und Progesteronrezeptoren. Ein bemerkenswertes Merkmal der TM3-Zellen ist ihre Reaktion auf LH, die zu einem Anstieg der cAMP-Produktion führt; sie reagieren jedoch nicht auf das follikelstimulierende Hormon (FSH). Die Aufrechterhaltung der LH-Ansprechbarkeit ist serummengenabhängig. Außerdem können diese Zellen in Gegenwart von LH Cholesterin metabolisieren. Sie wurden auf das Ektromelie-Virus (Mauspocken) getestet und für negativ befunden, was einen hohen Sicherheitsstandard für die Verwendung im Labor gewährleistet

Organism Maus

Tissue Hoden

Disease Normale Leydig-Zellen des Hodens (nicht tumorigen; BALB/c-Maus)

Metastatic site Nicht zutreffend (normale, nicht tumorigene Hodenzelllinie)

Applications Biologie der Leydig-Zellen; Steroidbildung im Hoden; LH/cAMP-Signalweg; Untersuchungen zu Androgen-, Östrogen- und Progesteronrezeptoren; Gonadotropin-Reaktivität; Cholesterinstoffwechsel; Forschung zur Entwicklung und Funktion des Hodens

Synonyms TM-3

Merkmale

Breed/Subspecies BALB/c

Age 11 bis 13 Tage

Gender Männlich

Morphology Epithelial

Cell type Leydig-Zellen

Growth properties Adhärent

TM3-Zellen | 305167

Regulatorische Daten

Citation	TM3 (Cytion Katalognummer 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Keine genetische Veränderung; Wildtyp-Leydig-Zelllinie der Maus, gewonnen aus den Hoden neugeborener BALB/c-Mäuse mittels Primärkultur

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 2,5% FBS, 5% Pferdeserum
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 36 bis 48 Stunden
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	1 bis 3
Seeding density	1 bis 3×10^4 Zellen/cm ²
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche

TM3-Zellen | 305167

Post-Thaw Recovery

Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und vor dem ersten Mediumwechsel mindestens 24–48 Stunden für die Adhäsion einplanen. Die von der Serumcharge abhängige LH-Reaktivität aufrechterhalten, indem jede FBS-Charge hinsichtlich der cAMP-Reaktion auf LH validiert wird.

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

TM3-Zellen | 305167

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.