

TM3 rakud | 305167

Üldine teave

Description	TM3 rakud on ainulaadne rakuliin, mis on saadud 11-13 päeva vanustest isaste hiirte Leydigi rakkudest, millel on adherentsed kasvuomadused. Need rakud on mittetuumorigeensed, kuna nad ei tekita immuunsupressiooniga hiirtel kasvajaaid, kuigi nad võivad moodustada kolooniaid poolkindlas keskkonnas. Nad ekspresseerivad prostaglandiin F2a geeni ja neid iseloomustavad mitmed ekspressioonimarkerid, sealhulgas luteiniseeriv hormoon (LH), epidermaalne kasvufaktor (EGF) ning androgeeni, östrogeeni ja progesterooni retseptorite positiivsed markerid. TM3 rakkude märkimisväärne omadus on nende vastus LH-le, mis toob kaasa cAMPi tootmise suurenemise; nad ei reageeri aga folliikuleid stimuleerivale hormoonile (FSH). LH-reaktiivsuse säilitamine sõltub seerumi kogusest. Lisaks võivad need rakud LH juuresolekul kolesterooli metaboliseerida. Neid on testitud ja leitud, et nad on ektromelia viiruse (hiireviiruse) suhtes negatiivsed, mis tagab kõrge ohutusstandardi laboratoorseks kasutamiseks
Organism	Hiir
Tissue	Testis
Disease	Normaalsed munandite Leydigi rakud (mittetuumorigeensed; BALB/c hiir)
Metastatic site	Ei kohaldata (normaalne, mittetuumorigeenne munandirakkude liin)
Applications	Leydigi rakkude bioloogia; munandite steroidogenees; LH/cAMP signaalimine; androgeeni-, östrogeeni- ja progesteroonireseptorite uuringud; gonadotropiinidele reageerimine; kolesterooli ainevahetus; munandite arengu ja funktsiooni uurimine
Synonyms	TM-3

Omadused

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	11-13 päeva
Gender	Mees
Morphology	Epiteel
Cell type	Leydigi rakud
Growth properties	Kinnipeetav

TM3 rakud | 305167

Regulatiivsed andmed

Citation	TM3 (Cytioni katalooginumber 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Geneetiliselt muundamata; loodusliku tüüpi hiire Leydigi rakuliin, mis on saadud vastsündinud BALB/c hiire munanditest esmase kultuuri abil

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 2,5% FBS, 5% hobuse seerumiga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	umbes 36–48 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

TM3 rakud | 305167

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist külvake rakud tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske neil enne esimest kasvukeskkonna vahetust vähemalt 24–48 tundi kinnituda. Säilitage seerumi partiist sõltuv LH-vastuvõtlikkus, kontrollides iga FBS-partii cAMP-vastust LH-le.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

TM3 rakud | 305167

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.