

TM3-solut | 305167

Yleisiä tietoja

Description	TM3-solut ovat ainutlaatuinen solulinja, joka on johdettu 11-13 päivän ikäisistä hiiren urosten Leydigin soluista ja jolla on tarttuvia kasvuominaisuuksia. Nämä solut eivät ole tuumorigeenisia, sillä ne eivät aiheuta kasvaimia immunosuppressoituneissa hiirissä, vaikka ne voivat muodostaa pesäkkeitä puolikiinteässä väliaineessa. Ne ilmentävät prostaglandiini F2a:n geenä, ja niille on ominaista useat ekspressiomarkkerit, kuten luteinisoiva hormoni (LH), epidermaalinen kasvutekijä (EGF) ja positiiviset merkkiaineet androgeeni-, estrogeeni- ja progesteronireseptoreille. TM3-solujen huomattava ominaisuus on niiden vaste LH:lle, joka johtaa cAMP-tuotannon lisääntymiseen; ne eivät kuitenkaan reagoi follikkelia stimuloivaan hormoniin (FSH). LH-reaktiivisuuden ylläpitäminen on seerumin erästä riippuvaista. Lisäksi LH:n läsnä ollessa nämä solut voivat metaboloida kolesterolia. Ne on testattu ja todettu negatiivisiksi ektromelia-viruksen (hiiren rokon) suhteen, mikä takaa korkean turvallisuusstandardin laboratoriokäytössä
Organism	Hiiri
Tissue	Kivekset
Disease	Normaalit kivesten Leydig-solut (ei-kasvainmuodostavat; BALB/c-hiiri)
Metastatic site	Ei sovelleta (normaali, ei-kasvainmuodostava kivessolulinja)
Applications	Leydigin solujen biologia; kivesten steroidien tuotanto; LH/cAMP-signaali; androgeeni-, estrogeeni- ja progesteronireseptoritutkimukset; gonadotropiiniherkkyys; kolesterolin aineenvaihdunta; kivesten kehityksen ja toiminnan tutkimus
Synonyms	TM-3

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	11-13 päivää
Gender	Mies
Morphology	Epiteeli
Cell type	Leydigin solut
Growth properties	Tarttuva

TM3-solut | 305167

Säätelytiedot

Citation	TM3 (Cytionin luettelonumero 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Ei geenimuuntelua; villityyppinen hiiren Leydig-solulinja, joka on peräisin vastasyntyneen BALB/c-hiiren kiveksistä primaariviljelmä

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 2,5 %:lla FBS:ää, 5 %:lla hevosseerumia
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	noin 36–48 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

TM3-solut | 305167

Post-Thaw Recovery

Sulatuksen jälkeen solut siirretään viljelyastioihin tiheydellä 5×10^4 solua/cm² ja annetaan niiden kiinnittyä vähintään 24–48 tuntia ennen ensimmäistä elatusaineen vaihtoa. Seerumin eräkohtainen LH-herkkyys säilytetään varmistamalla jokaisen FBS-erän cAMP-vaste LH:lle.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

TM3-solut | 305167

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.