Product sheet

Cellules TM3 | 305167

Informations générales

Description	Les cellules TM3 sont une lignée cellulaire unique dérivée de cellules de Leydig de souris mâles âgées de 11 à 13 jours, présentant des propriétés de croissance adhérente. Ces cellules ne sont pas tumorigènes, car elles ne provoquent pas de tumeurs chez les souris immunodéprimées, bien qu'elles puissent former des colonies en milieu semi-solide. Elles expriment le gène de la prostaglandine F2a et sont caractérisées par plusieurs marqueurs d'expression, notamment l'hormone lutéinisante (LH), le facteur de croissance épidermique (EGF) et des marqueurs positifs pour les récepteurs des androgènes, des œstrogènes et de la progestérone. Une caractéristique notable des cellules TM3 est leur réponse à la LH, qui entraîne une augmentation de la production d'AMPc ; en revanche, elles ne répondent pas à l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Le maintien de la réponse à la LH dépend de la quantité de sérum. En outre, en présence de LH, ces cellules peuvent métaboliser le cholestérol. Elles ont été testées et se sont révélées négatives pour le virus de l'ectromélie (mousepox), ce qui garantit un niveau élevé de sécurité pour l'utilisation en laboratoire
Organism	Souris
Tissue	Testicule
Disease	Cellules de Leydig testiculaires normales (non tumorigènes ; souris BALB/c)
Metastatic site	Sans objet (lignée cellulaire testiculaire normale, non tumorigène)
Applications	Biologie des cellules de Leydig ; stéroïdogenèse testiculaire ; voie de signalisation LH/AMPc ; études sur les récepteurs des androgènes, des œstrogènes et de la progestérone ; réactivité aux gonadotrophines ; métabolisme du cholestérol ; recherche sur le développement et le fonctionnement des testicules
Synonyms	TM-3

Caractéristiques

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	11 à 13 jours
Gender	Homme
Morphology	Épithéliale
Cell type	Cellules de Leydig
Growth properties	Adhérent

Product sheet

Cellules TM3 | 305167

Données réglementaires

Citation	TM3 (numéro de catalogue Cytion 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Sans modification génétique ; lignée cellulaire de cellules de Leydig de souris de type sauvage, issue d'une culture primaire de testicules de souris BALB/c nouveau-nées

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820400a)
Supplements	Compléter le milieu avec 2,5 % de FBS, 5 % de sérum de cheval
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 36 à 48 heures
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 à 3
Seeding density	1 à 3 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules TM3 | 305167

Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm² et laisser au moins 24 à 48 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu. Maintenir la réactivité à la LH, qui dépend du lot de sérum, en validant chaque lot de FBS quant à sa réponse de l'AMPc à la LH.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun

Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.