

TM3 sejtek | 305167

Általános információk

Description	A TM3 sejtek 11-13 napos hím egér Leydig-sejtekből származó egyedi sejtvonal, amely tapadó növekedési tulajdonságokkal rendelkezik. Ezek a sejtek nem tumorogének, mivel immunszupprimált egerekben nem okoznak tumort, bár félszilárd táptalajon kolóniákat képezhetnek. A prosztaglandin F2a gént expresszálják, és számos expressziós markerrel jellemezhetők, beleértve a luteinizáló hormont (LH), az epidermális növekedési faktort (EGF), valamint az androgén-, ösztrogén- és progeszteronreceptorok pozitív markereit. A TM3 sejtek figyelemre méltó jellemzője az LH-ra adott válaszuk, amely a cAMP-termelés növekedéséhez vezet; a tüszőstimuláló hormonra (FSH) azonban nem reagálnak. Az LH-rezisztencia fenntartása szérumtétel-függő. Ezenkívül LH jelenlétében ezek a sejtek képesek koleszterint metabolizálni. Vizsgálták és negatívnak találták őket az ectromelia vírusra (egérhimlő), ami magas szintű biztonságot biztosít a laboratóriumi felhasználás számára
Organism	Egér
Tissue	Herék
Disease	Normális hereszöveti Leydig-sejtek (nem daganatképző; BALB/c egér)
Metastatic site	Nem alkalmazható (normál, nem tumorogén heresejt-vonal)
Applications	A Leydig-sejtek biológiája; a herékben zajló szteroidogenezis; az LH/cAMP jelátvitel; az androgén-, ösztrogén- és progeszteron-receptorok vizsgálata; a gonadotropinokra való reagálóképesség; a koleszterin-anyagcsere; a herék fejlődésének és működésének kutatása
Synonyms	TM-3

Jellemzők

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	11-13 nap
Gender	Férfi
Morphology	Epithelialis
Cell type	Leydig-sejtek
Growth properties	Adherent

TM3 sejtek | 305167

Szabályozási adatok

Citation	TM3 (Cytion katalógusszám: 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Nincs genetikai módosítás; vad típusú egér Leydig-sejtvonal, amelyet újszülött BALB/c egér heréjéből elsődleges tenyészet útján nyertek

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 2,5% FBS-szel, 5% lószérummal egészítsük ki
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	kb. 36–48 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

TM3 sejtek | 305167

Post-Thaw Recovery

Felolvasztás után a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel ültessük be, és az első tápközeg-csere előtt legalább 24–48 órát várjunk a tapadásra. A szérum tételétől függő LH-reakcióképességet úgy tartjuk fenn, hogy minden FBS-tétel esetében ellenőrizzük az LH-ra adott cAMP-választ.

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

TM3 sejtek | 305167

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.