

TM3 ląstelės | 305167

Bendra informacija

Description TM3 ląstelės yra unikali ląstelių linija, gauta iš 11-13 dienų amžiaus pelių patinų Leydig ląstelių, pasižyminčių adherentinio augimo savybėmis. Šios ląstelės yra netumorigeninės, nes nesukelia navikų imunosupresinėms pelėms, nors gali sudaryti kolonijas pusiau kietoje terpėje. Jos ekspresuoja prostaglandino F2a geną ir pasižymi keliais raiškos žymenimis, įskaitant liuteinizuojantį hormoną (LH), epidermio augimo faktorių (EGF) ir teigiamus androgenų, estrogenų ir progesterono receptorių žymenis. TM3 ląstelės pasižymi tuo, kad jos reaguoja į LH, dėl kurio padidėja cAMP gamyba; tačiau jos nereaguoja į folikulus stimuliuojantį hormoną (FSH). LH reaktyvumo palaikymas priklauso nuo serumo kiekio. Be to, esant LH, šios ląstelės gali metabolizuoti cholesterolį. Jos buvo iširtos ir nustatyta, kad jos yra neigiamos dėl ektromelijos viruso (pelių raupų), todėl užtikrinamas aukštas laboratorinio naudojimo saugumo standartas

Organism Pelė

Tissue Sėklidės

Disease Normalios sėklidžių Leydigo ląstelės (nesukeliančios navikų; BALB/c pelė)

Metastatic site Netaikoma (įprasta, navikų nesukelianti sėklidžių ląstelių linija)

Applications Leydigo ląstelių biologija; sėklidžių steroidogenezė; LH/cAMP signalizacija; androgenų, estrogenų ir progesterono receptorių tyrimai; reakcija į gonadotropinus; cholesterolio apykaita; sėklidžių vystymosi ir funkcionavimo tyrimai

Synonyms TM-3

Charakteristikos

Breed/Subspecies BALB/c

Age 11-13 dienų

Gender Vyras

Morphology Epitelis

Cell type Leydigo ląstelės

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

TM3 ląstelės | 305167

Citation	TM3 (Cytion katalogo numeris 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Be genetinių modifikacijų; natūralaus tipo pelių Leydigo ląstelių linija, gauta iš naujagimių BALB/c sėklidžių pirminės kultūros

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 2,5 % FBS, 5 % arklių serumo
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	maždaug nuo 36 iki 48 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1-3
Seeding density	nuo 1 iki 3×10^4 ląstelių/cm ²
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius ląsteles, jas išsėkite į lėkštes tankiu 5×10^4 ląstelių/cm ² ir prieš pirmąją terpės keitimą palaukite mažiausiai 24-48 valandas, kol ląstelės prisitvirtins. Siekiant išlaikyti nuo serumo partijos priklausomą reakciją į LH, reikia patikrinti kiekvienos FBS partijos reakciją į LH, vertinant cAMP atsaką.

TM3 ląstelės | 305167

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

TM3 ląstelės | 305167

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.