

TM3 šūnas | 305167

Vispārīga informācija

Description TM3 šūnas ir unikāla šūnu līnija, kas iegūta no 11 līdz 13 dienas vecām peļu Leidiga šūnām, kurām piemīt adherentas augšanas īpašības. Šīs šūnas nav tumorogēnas, jo tās neizraisa audzējus imunosupresētām pelēm, lai gan tās var veidot kolonijas daļēji cietā vidē. Tās ekspresē prostaglandīna F2a gēnu, un tām ir raksturīgi vairāki ekspresijas marķieri, tostarp luteinizējošais hormons (LH), epidermālais augšanas faktors (EGF) un androgēnu, estrogēnu un progesterona receptoru pozitīvi marķieri. Ievērojama TM3 šūnu iezīme ir to reakcija uz LH, kas izraisa cAMP ražošanas pieaugumu; tomēr tās nereaģē uz folikulus stimulējošo hormonu (FSH). LH reaktivitātes uzturēšana ir atkarīga no seruma daudzuma. Turklāt LH klātbūtnē šīs šūnas var metabolizēt holesterīnu. Tās ir pārbaudītas un atzītas par negatīvām attiecībā uz ektromēlijas vīrusu (peļu bakām), tādējādi nodrošinot augstu laboratorijas lietošanas drošības standartu

Organism Pele

Tissue Testis

Disease Normālas sēklinieku Leydiga šūnas (netumorogēnas; BALB/c pele)

Metastatic site Neattiecas (normāla, netumorogēna sēklinieku šūnu līnija)

Applications Leydiga šūnu bioloģija; steroīdu sintēze sēkliniekos; LH/cAMP signālceļš; androgēnu, estrogēnu un progesterona receptoru pētījumi; gonadotropīnu reakcija; holesterīna vielmaiņa; sēklinieku attīstības un funkcijas pētījumi

Synonyms TM-3

Raksturojums

Breed/Subspecies BALB/c

Age 11 līdz 13 dienas

Gender Vīrieši

Morphology Epitēlija

Cell type Leydiga šūnas

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

TM3 šūnas | 305167

Citation	TM3 (Cytion kataloga numurs 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Nav ģenētiski modificēta; savvaļas tipa peles Leydiga šūnu līnija, kas iegūta no jaundzimušo BALB/c sēkliniekiem, izmantojot primāro kultūru

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 2,5 % FBS, 5 % zirgu seruma
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aptuveni 36 līdz 48 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	1 līdz 3×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izsējiet šūnas ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm ² un pirms pirmās barotnes nomaiņas ļaujiet tām piestiprināties vismaz 24-48 stundas. Uzturiet no seruma partijas atkarīgo LH reaģētspēju, pārbaudot katras FBS partijas cAMP reakciju uz LH.

TM3 šūnas | 305167

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

TM3 šūnas | 305167

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.