

TM3 Cellen | 305167

Algemene informatie

Description TM3-cellen zijn een unieke cellijn afkomstig van 11 tot 13 dagen oude mannelijke Leydig-cellen van muizen, die adherente groei-eigenschappen vertonen. Deze cellen zijn niet-tumorigeen, aangezien ze geen tumoren veroorzaken in immuunsuppressieve muizen, hoewel ze kolonies kunnen vormen in een halfvast medium. Ze brengen het gen voor prostaglandine F2a tot expressie en worden gekenmerkt door verschillende expressiemarkers, waaronder luteïniserend hormoon (LH), epidermale groeifactor (EGF) en positieve markers voor androgeen-, oestrogeen- en progesteronreceptoren. Een opvallend kenmerk van TM3-cellen is hun respons op LH, die leidt tot een toename van de cAMP-productie; ze reageren echter niet op follikelstimulerend hormoon (FSH). Het behoud van de LH-respons is afhankelijk van de hoeveelheid serum. Bovendien kunnen deze cellen in aanwezigheid van LH cholesterol metaboliseren. Ze zijn getest en negatief bevonden voor ectromeliavirus (muizenpokken), waardoor een hoge veiligheidsstandaard voor laboratoriumgebruik is gegarandeerd

Organism Muis

Tissue Testikel

Disease Normale Leydig-cellen in de testis (niet-tumorigene; BALB/c-muis)

Metastatic site Niet van toepassing (normale, niet-tumorigene testiculaire cellijn)

Applications Biologie van de Leydig-cellen; steroïdogenese in de testikels; LH/cAMP-signalering; onderzoek naar androgeen-, oestrogeen- en progesteronreceptoren; reactie op gonadotropinen; cholesterolmetabolisme; onderzoek naar de ontwikkeling en functie van de testikels

Synonyms TM-3

Kenmerken

Breed/Subspecies BALB/c

Age 11 tot 13 dagen

Gender Mannelijk

Morphology Epitheel

Cell type Leydigcellen

Growth properties Aanhangend

TM3 Cellen | 305167

Regelgevende gegevens

Citation	TM3 (Cytion catalogusnummer 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Geen genetische modificatie; wildtype Leydig-celijn van muizen, afkomstig uit de testikels van pasgeboren BALB/c-muizen via primaire kweek

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 2,5% FBS, 5% paardenserum
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ongeveer 36 tot 48 uur
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	1 tot en met 3
Seeding density	1 tot 3×10^4 cellen/cm ²
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week

TM3 Cellen | 305167

Post-Thaw Recovery

Breng de cellen na het ontdooien uit op een celdichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en laat ze ten minste 24–48 uur hechten voordat het medium voor het eerst wordt ververs. Zorg ervoor dat de LH-respons, die afhankelijk is van de serumpartij, behouden blijft door elke FBS-partij te valideren op de cAMP-respons op LH.

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

TM3 Cellen | 305167

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.