

TM3-celler | 305167

Allmän information

Description TM3 Cells är en unik cellinje som härrör från 11 till 13 dagar gamla Leydig-celler från hanmöss och som uppvisar adherenta tillväxtegenskaper. Dessa celler är icke-tumorigena, eftersom de inte orsakar tumörer hos immunosupprimerade möss, även om de kan bilda kolonier i halvfast medium. De uttrycker genen för prostaglandin F2a och kännetecknas av flera uttrycksmarkörer, bland annat luteiniserande hormon (LH), epidermal tillväxtfaktor (EGF) och positiva markörer för androgen-, östrogen- och progesteronreceptorer. En anmärkningsvärd egenskap hos TM3-cellerna är att de svarar på LH, vilket leder till en ökning av cAMP-produktionen; de svarar dock inte på follikelstimulerande hormon (FSH). Upprätthållandet av LH-responsen är beroende av mängden serum. I närvaro av LH kan dessa celler dessutom metabolisera kolesterol. De har testats och befunnits negativa för ectromelia-virus (musepox), vilket garanterar en hög säkerhetsstandard för laboratorieanvändning

Organism Mus

Tissue Testiklarna

Disease Normala Leydigceller i testiklarna (icke-tumörbildande; BALB/c-mus)

Metastatic site Ej tillämpligt (normal, icke-tumörbildande testikelcellinje)

Applications Leydigcellernas biologi; steroidbildning i testiklarna; LH/cAMP-signalerings; studier av androgen-, östrogen- och progesteronreceptorer; gonadotropinrespons; kolesterolmetabolism; forskning om testiklarnas utveckling och funktion

Synonyms TM-3

Egenskaper

Breed/Subspecies BALB/c

Age 11 till 13 dagar

Gender Man

Morphology Epitelial

Cell type Leydig-celler

Growth properties Följsam

TM3-celler | 305167

Lagstadgade uppgifter

Citation	TM3 (Cytion katalognummer 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Ingen genetisk modifiering; vildtyp-Leydigcellinje från mus, framställd genom primärodling av testiklar från nyfödda BALB/c-möss

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 2,5% FBS, 5% hästserum
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca 36 till 48 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	1 till 3
Seeding density	1 till 3×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

TM3-celler | 305167

Post-Thaw Recovery

Efter upptining ska cellerna odlas ut med en täthet på 5×10^4 celler/cm² och få vidhäfta i minst 24–48 timmar innan det första medielbytet. Säkerställ att LH-responsen är beroende av serumpartiet genom att validera varje FBS-parti med avseende på cAMP-responsen på LH.

Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

TM3-celler | 305167

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.