

## Клітини ТМЗ | 305167

## Загальна інформація

**Description** Клітини ТМЗ - це унікальна клітинна лінія, отримана з 11-13-денних клітин Лейдіга мишей-самців, що демонструють властивості адгезивного росту. Ці клітини не є пухлиноутворюючими, оскільки не викликають пухлин у мишей з імуносупресією, хоча вони можуть утворювати колонії в напівтвердому середовищі. Вони експресують ген простагландину F2a і характеризуються кількома маркерами експресії, включаючи лютеїнізуючий гормон (ЛГ), епідермальний фактор росту (ЕФР) і позитивні маркери рецепторів андрогенів, естрогенів і прогестерону. Примітною особливістю клітин ТМЗ є їхня відповідь на ЛГ, що призводить до збільшення продукції цАМФ, однак вони не реагують на фолікулостимулюючий гормон (ФСГ). Підтримка відповіді на ЛГ залежить від партії сироватки. Крім того, в присутності ЛГ ці клітини можуть метаболізувати холестерин. Вони були протестовані і визнані негативними до вірусу ектромелії (мишачої віспи), що забезпечує високий стандарт безпеки для лабораторного використання

**Organism** Миша

**Tissue** Яєчко

**Disease** Нормальні клітини Лейдіга яєчка (непухлинні; миша BALB/c)

**Metastatic site** Не застосовується (нормальна, непухлинна лінія клітин яєчка)

**Applications** Біологія клітин Лейдіга; стероїдогенез у яєчках; сигнальний шлях ЛГ/цАМФ; дослідження рецепторів андрогенів, естрогенів та прогестерону; чутливість до гонадотропінів; метаболізм холестерину; дослідження розвитку та функціонування яєчок

**Synonyms** ТМ-3

## Характеристики

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Age** від 11 до 13 днів

**Gender** Чоловік

**Morphology** Епітеліальний

**Cell type** Клітини Лейдіга

**Growth properties** Адепт

## Клітини ТМ3 | 305167

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	ТМ3 (номер за каталогом Cytion 305167)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4326
<b>GMO Status</b>	Без генетичної модифікації; лінія клітин Лейдіга мишей дикого типу, отримана шляхом первинної культивування з яєчок новонароджених мишей лінії BALB/c

## Біомолекулярні дані

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO <sub>3</sub> (цит. номер 820400a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 2,5% FBS, 5% кінської сироватки
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза
<b>Doubling time</b>	приблизно від 36 до 48 годин
<b>Subculturing</b>	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб Т25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб Т75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб Т25 і 2,5 мл для колб Т75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
<b>Split ratio</b>	від 1 до 3
<b>Seeding density</b>	від 1 до $3 \times 10^4$ клітин/см <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2-3 рази на тиждень

## Клітини ТМ3 | 305167

**Post-Thaw Recovery**

Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте їм прикріпитися протягом щонайменше 24–48 годин перед першою заміною середовища. Забезпечте залежність чутливості до ЛГ від партії сироватки шляхом перевірки кожної партії FBS на реакцію цАМФ на ЛГ.

**Freeze medium**

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Hi

## Клітини ТМ3 | 305167

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °С під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °С під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °С. Зберігання при -80 °С допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.