

Cellules TM3 | 305167

Renseignements généraux

Description Les cellules TM3 constituent une lignée cellulaire unique dérivée de cellules de Leydig de souris mâles âgées de 11 à 13 jours, présentant des propriétés de croissance adhérente. Ces cellules sont non tumorigènes, car elles ne provoquent pas de tumeurs chez les souris immunodéprimées, bien qu'elles puissent former des colonies dans un milieu semi-solide. Elles expriment le gène de la prostaglandine F2a et se caractérisent par plusieurs marqueurs d'expression, notamment l'hormone lutéinisante (LH), le facteur de croissance épidermique (EGF) et des marqueurs positifs pour les récepteurs aux androgènes, aux œstrogènes et à la progestérone. Une caractéristique notable des cellules TM3 est leur réponse à la LH, qui entraîne une augmentation de la production d'AMPc; toutefois, elles ne réagissent pas à l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Le maintien de la réactivité à la LH dépend du lot de sérum utilisé. De plus, en présence de LH, ces cellules sont capables de métaboliser le cholestérol. Elles ont été testées et se sont révélées négatives pour le virus de l'ectromélie (variole de la souris), ce qui garantit un niveau élevé de sécurité pour une utilisation en laboratoire.

Organism Souris

Tissue Testicule

Disease Cellules de Leydig testiculaires normales (non tumorigènes; souris BALB/c)

Metastatic site Sans objet (lignée cellulaire testiculaire normale, non tumorigène)

Applications Biologie des cellules de Leydig; stéroïdogénèse testiculaire; voie de signalisation LH/AMPc; études sur les récepteurs des androgènes, des œstrogènes et de la progestérone; réactivité aux gonadotrophines; métabolisme du cholestérol; recherche sur le développement et le fonctionnement des testicules

Synonyms TM-3

Caractéristiques

Breed/Subspecies BALB/c

Age de 11 à 13 jours

Gender Homme

Morphology Épithélial

Cell type Cellules de Leydig

Growth properties Adepte

Cellules TM3 | 305167

Données réglementaires

Citation	TM3 (numéro de catalogue Cytion 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Sans modification génétique; lignée cellulaire de cellules de Leydig de souris de type sauvage, dérivée de testicules de souris BALB/c nouveau-nées par culture primaire

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO ₃ (référence Cytion 820400a)
Supplements	Ajouter au milieu 2,5 % de FBS et 5 % de sérum de cheval
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 36 à 48 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 à 3
Seeding density	de 1 à 3 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules TM3 | 305167

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser au moins 24 à 48 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu. Maintenir la réactivité à la LH, qui dépend du lot de sérum, en validant chaque lot de FBS quant à sa réponse de l'AMPc à la LH.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules TM3 | 305167

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.