

## TM3-celler | 305167

## Generel information

<b>Description</b>	TM3-celler er en unik cellelinje, der stammer fra 11 til 13 dage gamle Leydig-celler fra hanmus, og som udviser adhærente vækstegenskaber. Disse celler er ikke-tumorogene, da de ikke forårsager tumorer i immunsupprimerede mus, selv om de kan danne kolonier i et halvfast medium. De udtrykker genet for prostaglandin F2a og er karakteriseret ved flere udtryksmarkører, herunder luteiniserende hormon (LH), epidermal vækstfaktor (EGF) og positive markører for androgen-, østrogen- og progesteronreceptorer. Et bemærkelsesværdigt træk ved TM3-celler er deres respons på LH, som fører til en stigning i cAMP-produktionen; de reagerer dog ikke på follikelstimulerende hormon (FSH). Opretholdelsen af LH-responsen er afhængig af mængden af serum. I nærvær af LH kan disse celler desuden omsætte kolesterol. De er blevet testet og fundet negative for ectromelia-virus (musekopper), hvilket sikrer en høj sikkerhedsstandard til laboratoriebrug
<b>Organism</b>	Mus
<b>Tissue</b>	Testis
<b>Disease</b>	Normale Leydig-celler i testiklerne (ikke-tumorogene; BALB/c-mus)
<b>Metastatic site</b>	Ikke relevant (normal, ikke-tumorigen testikelcellelinje)
<b>Applications</b>	Leydig-cellebiologi; steroidogenese i testiklerne; LH/cAMP-signalerings; undersøgelser af androgen-, østrogen- og progesteronreceptorer; gonadotropinrespons; kolesterolmetabolisme; forskning i testiklernes udvikling og funktion
<b>Synonyms</b>	TM-3

## Karakteristika

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Age</b>	11 til 13 dage
<b>Gender</b>	Mand
<b>Morphology</b>	Epitelial
<b>Cell type</b>	Leydig-celler
<b>Growth properties</b>	Vedhæftende

## Regulatoriske data

## TM3-celler | 305167

<b>Citation</b>	TM3 (Cytion katalognummer 305167)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4326
<b>GMO Status</b>	Ingen genetisk modifikation; vildtype-Leydig-cellelinje fra mus, udvundet fra testikler fra nyfødte BALB/c-mus ved primærkultur

## Biomolekylære data

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820400a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 2,5 % FBS, 5 % hesteserum
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	ca. 36 til 48 timer
<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
<b>Split ratio</b>	1 til 3
<b>Seeding density</b>	1 til $3 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 til 3 gange om ugen
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Efter optøning udplades cellerne med en tæthed på $5 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup> , og der skal afventes mindst 24-48 timer, indtil cellerne har fæstnet sig, inden det første medieskift foretages. Sørg for at opretholde den lotafhængige LH-respons i serum ved at validere hvert FBS-lot med hensyn til cAMP-respons på LH.

## TM3-celler | 305167

### Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## TM3-celler | 305167

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.