

## Κύτταρα TM3 | 305167

## Γενικές πληροφορίες

<b>Description</b>	Τα κύτταρα TM3 είναι μια μοναδική κυτταρική σειρά που προέρχεται από κύτταρα Leydig αρσενικών ποντικών ηλικίας 11 έως 13 ημερών, με ιδιότητες προσκολλημένης ανάπτυξης. Τα κύτταρα αυτά είναι μη ογκογόνα, καθώς δεν προκαλούν όγκους σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια, αν και μπορούν να σχηματίσουν αποικίες σε ημιστερέο μέσο. Εκφράζουν το γονίδιο για την προσταγλανδίνη F2a και χαρακτηρίζονται από διάφορους δείκτες έκφρασης, όπως η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH), ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF) και θετικοί δείκτες για υποδοχείς ανδρογόνων, οιστρογόνων και προγεστερόνης. Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των κυττάρων TM3 είναι η ανταπόκρισή τους στην LH, η οποία οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής cAMP- ωστόσο, δεν ανταποκρίνονται στην ορμόνη διέγερσης ωοθυλακίου (FSH). Η διατήρηση της ανταπόκρισης στην LH εξαρτάται από την παρτίδα ορού. Επιπλέον, παρουσία LH, τα κύτταρα αυτά μπορούν να μεταβολίσουν τη χοληστερόλη. Έχουν δοκιμαστεί και έχουν βρεθεί αρνητικά για τον ιό της εκτρωμαλίας (ποντικοπαρωτίτιδα), εξασφαλίζοντας υψηλά πρότυπα ασφάλειας για εργαστηριακή χρήση
<b>Organism</b>	Ποντίκι
<b>Tissue</b>	Όρχεις
<b>Disease</b>	Φυσιολογικά κύτταρα Leydig των όρχεων (μη καρκινογόνα· ποντίκι BALB/c)
<b>Metastatic site</b>	Δεν ισχύει (φυσιολογική, μη καρκινογόνος σειρά κυττάρων των όρχεων)
<b>Applications</b>	Βιολογία των κυττάρων του Leydig· στεροειδογένεση των όρχεων· σηματοδότηση LH/cAMP· μελέτες των υποδοχέων ανδρογόνων/οιστρογόνων/προγεστερόνης· ανταπόκριση στις γοναδοτροπίνες· μεταβολισμός της χοληστερόλης· έρευνα σχετικά με την ανάπτυξη και τη λειτουργία των όρχεων
<b>Synonyms</b>	TM-3

## Χαρακτηριστικά

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Age</b>	11 έως 13 ημέρες
<b>Gender</b>	Άντρας
<b>Morphology</b>	Επιθηλιακό
<b>Cell type</b>	Κύτταρα Leydig
<b>Growth properties</b>	Προσκολλημένο

## Κύτταρα TM3 | 305167

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	TM3 (αριθμός καταλόγου Cytion 305167)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4326
<b>GMO Status</b>	Χωρίς γενετική τροποποίηση· σειρά κυττάρων Leydig ποντικού φυσικού τύπου, που προέρχεται από πρωτογενή καλλιέργεια νεογνικών όρχεων BALB/c

## Βιομοριακά δεδομένα

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 2,5% FBS, 5% ορό αλόγου
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	περίπου 36 έως 48 ώρες
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Split ratio</b>	1 έως 3
<b>Seeding density</b>	1 έως $3 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Κύτταρα TM3 | 305167****Post-Thaw Recovery**

Μετά την απόψυξη, μεταφέρετε τα κύτταρα σε τρυβλία με πυκνότητα  $5 \times 10^4$  κύτταρα/cm<sup>2</sup> και αφήστε τα να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24–48 ώρες πριν από την πρώτη αλλαγή του θρεπτικού μέσου. Διατηρήστε την ανταπόκριση στην LH, η οποία εξαρτάται από την παρτίδα του ορού, επαληθεύοντας για κάθε παρτίδα FBS την απόκριση του cAMP στην LH.

**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

## Κύτταρα TM3 | 305167

**Flask Coating** Κανένα

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.