

## TM3-celler | 305167

## Generell informasjon

<b>Description</b>	TM3-celler er en unik cellelinje avledet fra 11 til 13 dager gamle mannlige Leydig-celler fra mus, og de har adherente vekstegenskaper. Disse cellene er ikke-tumorogene, ettersom de ikke forårsaker svulster i immunsupprimerte mus, selv om de kan danne kolonier i halvfast medium. De uttrykker genet for prostaglandin F2a og er karakterisert av flere ekspresjonsmarkører, inkludert luteiniserende hormon (LH), epidermal vekstfaktor (EGF) og positive markører for androgen-, østrogen- og progesteronreseptorer. Et bemerkelsesverdige trekk ved TM3-cellene er at de reagerer på LH, noe som fører til en økning i cAMP-produksjonen, men de reagerer ikke på follikkelstimulerende hormon (FSH). Opprettholdelsen av LH-responsen er avhengig av serummengde. I tillegg kan disse cellene metabolisere kolesterol i nærvær av LH. De er testet og funnet negative for ektromelia-virus (musepoks), noe som sikrer en høy sikkerhetsstandard for laboratoriebruk
<b>Organism</b>	Mus
<b>Tissue</b>	Testis
<b>Disease</b>	Normale Leydig-celler i testiklene (ikke-tumorogene; BALB/c-mus)
<b>Metastatic site</b>	Ikke relevant (normal, ikke-tumorigen testikkelcellelinje)
<b>Applications</b>	Leydig-cellebiologi; steroidogenese i testiklene; LH/cAMP-signalerings; studier av androgen-, østrogen- og progesteronreseptorer; respons på gonadotropiner; kolesterolmetabolisme; forskning på testikkelutvikling og -funksjon
<b>Synonyms</b>	TM-3

## Kjennetegn

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Age</b>	11 til 13 dager
<b>Gender</b>	Mann
<b>Morphology</b>	Epitelial
<b>Cell type</b>	Leydig-celler
<b>Growth properties</b>	Vedhengende

## 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 modifisering; villtype-Leydig-cellelinje fra mus, avledet fra testikler hos nyfødte BALB/c-mus ved primærkultur

## Biomolekylære data

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 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 mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt 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 ganger per uke
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Etter tining skal cellene sås med en tetthet på $5 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup> , og det må gis minst 24-48 timer til cellene har festet seg før det første mediumskiftet. Oppretthold den lotavhengige LH-responsen ved å validere hvert FBS-parti med hensyn til cAMP-responsen på LH.

## TM3-celler | 305167

### Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## TM3-celler | 305167

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.