

## Celule TM3 | 305167

## Informații generale

<b>Description</b>	Celulele TM3 sunt o linie celulară unică derivată din celule Leydig de șoarece mascul de 11-13 zile, care prezintă proprietăți de creștere aderente. Aceste celule nu sunt tumorigene, deoarece nu provoacă tumori la șoarecii imunosupresați, deși pot forma colonii în mediu semisolid. Ele exprimă gena pentru prostaglandină F2a și sunt caracterizate de mai mulți markeri de expresie, inclusiv hormonul luteinizant (LH), factorul de creștere epidermic (EGF) și markeri pozitivi pentru receptorii de androgeni, estrogeni și progesteron. O caracteristică notabilă a celulelor TM3 este răspunsul lor la LH, care duce la o creștere a producției de AMPc; cu toate acestea, ele nu răspund la hormonul foliculostimulant (FSH). Menținerea răspunsului la LH este dependentă de lotul de ser. În plus, în prezența LH, aceste celule pot metaboliza colesterolul. Acestea au fost testate și au fost găsite negative pentru virusul ectromeliei (variola de șoarece), asigurând un standard ridicat de siguranță pentru utilizarea în laborator
<b>Organism</b>	Șoarece
<b>Tissue</b>	Testicul
<b>Disease</b>	Celule Leydig testiculare normale (netumorigene; șoarece BALB/c)
<b>Metastatic site</b>	Nu se aplică (linie celulară testiculară normală, netumorigenică)
<b>Applications</b>	Biologia celulelor Leydig; steroidogeneza testiculară; semnalizarea LH/cAMP; studii privind receptorii de androgeni, estrogeni și progesteron; reactivitatea la gonadotropine; metabolismul colesterolului; cercetări privind dezvoltarea și funcționarea testiculelor
<b>Synonyms</b>	TM-3

## Caracteristici

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Age</b>	11 până la 13 zile
<b>Gender</b>	Masculin
<b>Morphology</b>	Epitelial
<b>Cell type</b>	Celule Leydig
<b>Growth properties</b>	Aderent

## Celule TM3 | 305167

## Date de reglementare

<b>Citation</b>	TM3 (număr de catalog Cytion 305167)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4326
<b>GMO Status</b>	Fără modificări genetice; linie celulară de celule Leydig de șoarece de tip sălbatic, obținută din testiculele unor șoareci BALB/c nou-născuți prin cultură primară

## Date biomoleculare

## Manipulare

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (număr articol Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Suplimentați mediul cu 2,5% FBS, 5% ser de cal
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	aproximativ 36–48 de ore
<b>Subculturing</b>	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
<b>Split ratio</b>	1–3
<b>Seeding density</b>	1 până la $3 \times 10^4$ celule/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	de 2 până la 3 ori pe săptămână

## Celule TM3 | 305167

### Post-Thaw Recovery

După decongelare, cultivați celulele la o densitate de  $5 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup> și lăsați-le să se adere timp de cel puțin 24–48 de ore înainte de prima schimbare a mediului de cultură. Mențineți reactivitatea la LH, care depinde de lotul de ser, prin validarea fiecărui lot de FBS în ceea ce privește răspunsul cAMP la LH.

### Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Niciuna

## Celule TM3 | 305167

### Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.