

**Bunky TM3 | 305167****Všeobecné informácie**

**Description** Bunky TM3 sú jedinečnou bunkovou líniou odvodenou z 11 až 13-dňových samčích Leydigových buniek myši, ktoré vykazujú adherentné rastové vlastnosti. Tieto bunky sú netumorózne, pretože nespôsobujú nádory u imunosuprimovaných myši, hoci môžu vytvárať kolónie v polotuhom médiu. Exprimujú gén pre prostaglandín F2a a vyznačujú sa niekoľkými expresnými markermi vrátane luteinizačného hormónu (LH), epidermálneho rastového faktora (EGF) a pozitívnych markerov pre androgénne, estrogénové a progesterónové receptory. Pozoruhodnou vlastnosťou TM3 buniek je ich reakcia na LH, ktorá vedie k zvýšeniu produkcie cAMP; nereagujú však na folikuly stimulujúci hormón (FSH). Udržiavanie reaktivity na LH je závislé od množstva séra. Okrem toho v prítomnosti LH môžu tieto bunky metabolizovať cholesterol. Boli testované a zistilo sa, že sú negatívne na vírus ektromélie (myšie kiahne), čo zaručuje vysoký štandard bezpečnosti pre laboratórne použitie

**Organism** Myš

**Tissue** Testis

**Disease** Normálne Leydigove bunky semenníka (netumorogénne; myš BALB/c)

**Metastatic site** Neplatí (normálna, netumorogénna testikulárna bunková línia)

**Applications** Biológia Leydigových buniek; steroidogenéza v semenníkoch; signálna dráha LH/cAMP; výskum receptorov androgénov, estrogénov a progesterónu; citlivosť na gonadotropíny; metabolizmus cholesterolu; výskum vývoja a funkcie semenníkov

**Synonyms** TM-3

**Charakteristika**

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Age** 11 až 13 dní

**Gender** Muži

**Morphology** Epitelové

**Cell type** Leydigove bunky

**Growth properties** Adherent

**Regulačné údaje**

**Bunky TM3 | 305167**

<b>Citation</b>	TM3 (katalógové číslo Cytion 305167)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4326
<b>GMO Status</b>	Bez genetickej modifikácie; bunková línia Leydigových buniek myši divokého typu získaná z primárnej kultúry semenníkov novorodených myší BALB/c

**Biomolekulárne údaje****Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobu Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 2,5 % FBS, 5 % konského séra
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	približne 36 až 48 hodín
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	1 až 3
<b>Seeding density</b>	1 až 3 × 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3-krát týždenne
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrazení naneste bunky na kultivačné misky v hustote 5 × 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup> a pred prvou výmenou živného média počkajte aspoň 24–48 hodín, aby sa bunky priľnuli. Udržujte citlivosť na LH v závislosti od šarže séra tak, že u každej šarže FBS overíte reakciu cAMP na LH.

## Bunky TM3 | 305167

### Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky TM3 | 305167

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.