

Células TM3 | 305167**Informações gerais**

Description As células TM3 são uma linha celular única derivada de células de Leydig de ratinho macho com 11 a 13 dias de idade, exibindo propriedades de crescimento aderente. Estas células não são tumorigênicas, uma vez que não causam tumores em ratinhos imunossuprimidos, embora possam formar colônias em meio semi-sólido. Expressam o gene para a prostaglandina F2a e são caracterizadas por vários marcadores de expressão, incluindo a hormona luteinizante (LH), o fator de crescimento epidérmico (EGF) e marcadores positivos para receptores de androgénio, estrogénio e progesterona. Uma característica notável das células TM3 é a sua resposta à LH, que leva a um aumento da produção de AMPc; no entanto, não respondem à hormona folículo-estimulante (FSH). A manutenção da reatividade à LH é dependente do lote de soro. Além disso, na presença de LH, estas células podem metabolizar o colesterol. Foram testadas e foram consideradas negativas para o vírus da ectromelia (varíola do rato), garantindo um elevado padrão de segurança para utilização em laboratório

Organism Rato

Tissue Testículo

Disease Células de Leydig testiculares normais (não tumorigênicas; rato BALB/c)

Metastatic site Não aplicável (linha celular testicular normal, não tumorigênica)

Applications Biologia das células de Leydig; esteroidogénese testicular; sinalização LH/cAMP; estudos sobre os recetores de androgénios, estrogénios e progesterona; resposta às gonadotrofinas; metabolismo do colesterol; investigação sobre o desenvolvimento e a função testiculares

Synonyms TM-3

Caraterísticas

Breed/Subspecies BALB/c

Age 11 a 13 dias

Gender Masculino

Morphology Epitelial

Cell type Células de Leydig

Growth properties Aderente

Células TM3 | 305167**Dados regulamentares**

Citation	TM3 (número de catálogo Cytion 305167)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Sem modificação genética; linha celular de células de Leydig de ratinho de tipo selvagem, derivada de testículos de ratinhos BALB/c recém-nascidos por cultura primária

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Suplementar o meio com 2,5% de FBS, 5% de soro de cavalo
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aprox. 36 a 48 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1 a 3
Seeding density	1 a 3×10^4 células/cm ²
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

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

Após a descongelação, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e aguarde pelo menos 24–48 horas para que adiram antes da primeira troca de meio. Mantenha a capacidade de resposta à LH, que depende do lote de soro, validando cada lote de FBS quanto à resposta do cAMP à LH.

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células TM3 | 305167

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.