

## Células TM3 | 305167

## Informações gerais

**Description** As células TM3 são uma linhagem celular única, derivada de células de Leydig de camundongos machos com 11 a 13 dias de idade, que apresentam propriedades de crescimento aderente. Essas células não são tumorigênicas, pois não causam tumores em camundongos imunossuprimidos, embora possam formar colônias em meio semissólido. Elas expressam o gene da prostaglandina F2a e são caracterizadas por vários marcadores de expressão, incluindo o hormônio luteinizante (LH), o fator de crescimento epidérmico (EGF) e marcadores positivos para receptores de andrógeno, estrogênio e progesterona. Uma característica notável das células TM3 é sua resposta ao LH, o que leva a um aumento na produção de AMPc; no entanto, elas não respondem ao hormônio folículo-estimulante (FSH). A manutenção da responsividade ao LH depende do lote de soro. Além disso, na presença de LH, essas células podem metabolizar o colesterol. Elas foram testadas e apresentaram resultado negativo para o vírus da ectromelia (varíola do camundongo), garantindo um alto padrão de segurança para uso em laboratório.

**Organism** Mouse

**Tissue** Testículo

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

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

**Applications** Biologia das células de Leydig; esteroidogênese testicular; sinalização LH/cAMP; estudos sobre receptores de andrógenos, estrogênios e progesterona; responsividade às gonadotrofinas; metabolismo do colesterol; pesquisa sobre o desenvolvimento e a função testicular

**Synonyms** TM-3

## Características

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Age** 11 a 13 dias

**Gender** Masculino

**Morphology** Epithelial

**Cell type** Células de Leydig

**Growth properties** Aderente

**Células TM3 | 305167****Dados regulatórios**

<b>Citation</b>	TM3 (número de catálogo da Cytion 305167)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4326
<b>GMO Status</b>	Sem modificação genética; linhagem de células de Leydig de camundongo do tipo selvagem, derivada de testículos de camundongos BALB/c recém-nascidos por meio de cultura primária

**Dados biomoleculares****Manuseio**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo da Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Adicione ao meio 2,5% de FBS e 5% de soro de cavalo
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	aproximadamente 36 a 48 horas
<b>Subculturing</b>	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Split ratio</b>	1 a 3
<b>Seeding density</b>	1 a 3 × 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 a 3 vezes por semana

## Células TM3 | 305167

### Post-Thaw Recovery

Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e aguarde pelo menos 24–48 horas para que se fixem antes da primeira troca de meio. Mantenha a responsividade ao LH, que depende do lote de soro, validando cada lote de FBS quanto à resposta do AMPc ao LH.

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

## Células TM3 | 305167

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente  $-150$  e  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O armazenamento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

### Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.