

Células GC-1 spg | 300375**Informações gerais****Description**

A linha celular GC-1 spg foi imortalizada por transfecção com o plasmídeo pSV3-neo, que contém as sequências de codificação do antígeno SV40 large T e resistência à neomicina. Esta modificação genética não só confere resistência a certos antibióticos, como também promove o crescimento contínuo das células, alterando a regulação do seu ciclo celular, contornando assim o limite de Hayflick típico das células primárias. Este processo de imortalização permite que as células mantenham a capacidade proliferativa, conservando as principais características fenotípicas das espermatogónias.

Fenotipicamente, a linha celular GC-1 spg apresenta características que são indicativas de uma fase de transição entre espermatogónias do tipo B e espermatócitos primários, tornando-a um modelo especialmente relevante para o estudo das fases iniciais da espermatogénese. As células expressam duas isoproteínas específicas do testículo: o citocromo c e a lactato desidrogenase C4. Estes marcadores são cruciais para o estudo do metabolismo celular e da gestão da energia durante a espermatogénese, reflectindo as vias metabólicas únicas activas nas células germinativas. A expressão destas isoproteínas específicas sublinha a utilidade da linha celular na exploração dos aspectos bioquímicos e fisiológicos da função e do desenvolvimento das células testiculares.

Organism Rato**Tissue** Testículo**Applications** cultura de células 3D**Synonyms** GC-1spg, GC-1, GC1-SPG**Caraterísticas****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** 10 dias**Gender** Masculino**Morphology** Epitelial**Cell type** Espermatócito**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

Células GC-1 spg | 300375**Citation** GC-1 spg (número de catálogo Cytion 300375)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_8872**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular de testículos murinos (GC-1 spg) contém um plasmídeo de expressão do antígeno T da SV40 (pSV3neo) que inclui um marcador de resistência Tn5-neo, que apoia a imortalização. A construção está integrada de forma estável em células espermatogônias de ratinho. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: antígeno T do vírus símio 40 (SV40)**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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.

Células GC-1 spg | 300375

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

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.

Células GC-1 spg | 300375

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.