

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

A linhagem celular GC-1 spg foi imortalizada por meio da transfecção com o plasmídeo pSV3-neo, que contém as sequências codificadoras do antígeno T grande do SV40 e da resistência à neomicina. Essa modificação genética não apenas confere resistência a certos antibióticos, mas também promove o crescimento contínuo das células ao alterar a regulação do ciclo celular, contornando assim o limite de Hayflick, típico das células primárias. Esse processo de imortalização permite que as células mantenham a capacidade proliferativa, ao mesmo tempo em que conservam características fenotípicas essenciais das espermatogônias.

Fenotipicamente, a linhagem celular GC-1 spg exibe características indicativas de um estágio de transição entre as espermatogônias do tipo B e os espermatócitos primários, tornando-a um modelo especialmente relevante para o estudo dos estágios iniciais da espermatogênese. As células expressam duas isoproteínas específicas dos testículos: o citocromo c e a lactato-desidrogenase C4. Esses marcadores são cruciais para o estudo do metabolismo celular e da gestão de energia durante a espermatogênese, refletindo as vias metabólicas únicas ativas nas células germinativas. A expressão dessas isoproteínas específicas ressalta a utilidade da linhagem celular na exploração dos aspectos bioquímicos e fisiológicos da função e do desenvolvimento das células testiculares.

Organism Mouse**Tissue** Testículo**Applications** Cultura celular 3D**Synonyms** GC-1spg, GC-1, GC1-SPG**Características****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** 10 dias**Gender** Masculino**Morphology** Epithelial**Cell type** Espermatócito**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios**

Células GC-1 spg | 300375**Citation** GC-1 spg (número de catálogo da Cytion 300375)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_8872**GMO Status** GMO-S1: Esta linhagem celular de testículo murino (GC-1 spg) contém um plasmídeo de expressão do antígeno T do SV40 (pSV3neo) que inclui um marcador de resistência Tn5-neo, o que permite a imortalização. A construção está integrada de forma estável em células espermatogônias de camundongo. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: Antígeno T do vírus simiano 40 (SV40)**Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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.**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.

Células GC-1 spg | 300375

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 , atmosfera umidificada.

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

Células GC-1 spg | 300375

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.