

GC-1 spg rakud | 300375

Üldine teave

Description

GC-1 spg rakuliin immortaliseeriti transfektsiooni teel pSV3-neo plasmiidiga, mis sisaldab SV40 suure T antigeeni ja neomütsiiniresistentsuse kodeerivaid järjestusi. See geneetiline modifikatsioon ei taga mitte ainult resistentsust teatavate antibiootikumide suhtes, vaid soodustab ka rakkude pidevat kasvu, muutes nende rakutsükli regulatsiooni, vältides seega primaarsetele rakkudele iseloomuliku Hayflicki piiri. See immortaliseerimisprotsess võimaldab rakkudel säilitada proliferatsioonivõime, säilitades samal ajal spermatogooniate peamised fenotüüpilised omadused.

Fenotüübiliselt on GC-1 spg rakuliinil omadused, mis viitavad üleminekustaadiumile B-tüüpi spermatogooniate ja primaarsete spermatotsüütide vahel, mistõttu on see eriti asjakohane mudel spermatogeneesi varajaste etappide uurimiseks. Need rakud ekspresseerivad kahte munandispetsiifilist isoproteiini: tsütokroom c ja laktaatdehüdrogenaas C4. Need markerid on olulised rakkude ainevahetuse ja energiamajanduse uurimiseks spermatogeneesi ajal, kajastades sugurakkudes aktiivseid unikaalseid ainevahetusradu. Nende spetsiifiliste isoproteiinide ekspressioon rõhutab rakuliini kasulikkust munandirakkude funktsiooni ja arengu biokeemiliste ja füsioloogiliste aspektide uurimisel.

Organism

Hiir

Tissue

Testis

Applications

3D rakukultuur

Synonyms

GC-1spg, GC-1, GC1-SPG

Omadused

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

10 päeva

Gender

Mees

Morphology

Epiteel

Cell type

Spermatotsüüdid

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

GC-1 spg rakud | 300375

Citation	GC-1 spg (Cytioni katalooginumbr 300375)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_8872
GMO Status	GMO-S1: See hiire munandirakuliin (GC-1 spg) sisaldab SV40 T-antigeeni ekspressiooniplasmiidi (pSV3neo), mis sisaldab Tn5-neo resistentsuse markerit, mis toetab immortaliseerimist. Konstruksioon on stabiilselt integreeritud hiire spermatogooniumirakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Transformant: simian virus 40 (SV40) T antigeen
----------------	---

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbr 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

GC-1 spg rakud | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

GC-1 spg rakud | 300375

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.