

GC-1 spg-solut | 300375

Yleisiä tietoja

Description

GC-1 spg-solulinja kuolemattomaksi transfektoimalla pSV3-neo-plasmidilla, joka sisältää SV40 large T - antigenin ja neomysiiniresistenssin koodaavat sekvenssit. Tämä geneettinen muunnos ei ainoastaan tarjoa resistenssiä tietyille antibiooteille, vaan myös edistää solujen jatkuvaa kasvua muuttamalla niiden solusyklin säätelyä ja ohittamalla näin primaarisoluille tyypillisen Hayflick-ajan. Tämän kuolemattomuusprosessin ansiosta solut säilyttävät proliferaatiivisen kapasiteettinsa säilyttäen samalla spermatogonian keskeiset fenotyyppiset ominaisuudet.

Fenotyyppisesti GC-1 spg-solulinjalla on ominaisuuksia, jotka viittaavat B-typin spermatogonioiden ja primaaristen spermatosyyttien väliseen siirtymävaiheeseen, mikä tekee siitä erityisen merkityksellisen mallin spermatogeneesin varhaisvaiheiden tutkimiseen. Solut ilmentävät kahta kivesspesifistä isoproteiinia: sytokromi c:tä ja laktaattidehydrogenaasi C4:ää. Nämä merkkiaineet ovat ratkaisevan tärkeitä solujen aineenvaihdunnan ja energianhallinnan tutkimisessa spermatogeneesin aikana, sillä ne heijastavat sukusoluissa toimivia ainutlaatuisia aineenvaihduntareittejä. Näiden spesifisten isoproteiinien ilmentyminen korostaa solulinjan hyödyllisyyttä kivessolujen toiminnan ja kehityksen biokemiallisten ja fysiologisten näkökohtien tutkimisessa.

Organism Hiiri

Tissue Kivekset

Applications 3D-soluviljely

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

Ominaisuudet

Breed/Subspecies BALB/c

Age 10 päivää

Gender Mies

Morphology Epiteeli

Cell type Spermatosyytit

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

GC-1 spg-solut | 300375

Citation	GC-1 spg (Cytionin luettelonumero 300375)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_8872
GMO Status	GMO-S1: Tämä hiiren kivessolulinja (GC-1 spg) sisältää SV40 T-antigeenin ekspressioplasmidia (pSV3neo), joka sisältää Tn5-neo-resistenssimarkkerin ja tukee kuolemattomuutta. Konstruktio on integroitu vakaasti hiiren spermatogonisoluihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Viruses	Transformantti: Simian virus 40 (SV40) T-antigeeni
----------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

GC-1 spg-solut | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

GC-1 spg-solut | 300375

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.