

GC-1 spg sejtek | 300375

Általános információk

Description

A GC-1 spg sejtvonalat a pSV3-neo plazmival történő transzfeccióval immortalizálták, amely az SV40 nagy T antigén és a neomicinrezisztencia kódoló szekvenciáit tartalmazza. Ez a genetikai módosítás nemcsak bizonyos antibiotikumokkal szembeni rezisztenciát biztosít, hanem a sejtek folyamatos növekedését is elősegíti a sejtciklus szabályozásának megváltoztatásával, így megkerülve az elsődleges sejtekre jellemző Hayflick-határt. Ez az immortalizációs folyamat lehetővé teszi a sejtek számára, hogy megőrizzék proliferatív képességüket, miközben megtartják a spermatogónia kulcsfontosságú fenotípusos jellemzőit.

Fenotípusosan a GC-1 spg sejtvonalt olyan tulajdonságokat mutat, amelyek a B típusú spermatogónia és az elsődleges spermatociták közötti átmeneti stádiumra utalnak, így különösen fontos modell a spermatogenezis korai szakaszainak tanulmányozására. A sejtek két herespecifikus izoproteint expresszálnak: a citokróm c-t és a laktát-dehidrogenáz C4-et. Ezek a markerek kulcsfontosságúak a sejtek anyagcseréjének és energiagazdálkodásának tanulmányozásához a spermatogenezis során, tükrözve az ivarsejtekben aktív egyedi anyagcsere-utakat. E specifikus izoproteinek expressziója aláhúzza a sejtvonalt hasznosságát a heresejtek működésének és fejlődésének biokémiai és fiziológiai aspektusainak feltárásában.

Organism Egér

Tissue Herék

Applications 3D sejt kultúra

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

Jellemzők

Breed/Subspecies BALB/c

Age 10 nap

Gender Férfi

Morphology Epithelialis

Cell type Spermatocita

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

GC-1 spg sejtek | 300375

Citation	GC-1 spg (Cytion katalógusszám: 300375)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_8872
GMO Status	GMO-S1: Ez az egér heresejtvonal (GC-1 spg) tartalmaz egy SV40 T-antigén expressziós plazmidot (pSV3neo), amely egy Tn5-neo rezisztencia markert tartalmaz, támogatva az immortalizációt. A konstrukció stabilan integrálódik egér spermatogonialis sejtekbe. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transzformáns: Simian virus 40 (SV40) T antigén
----------------	---

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

GC-1 spg sejtek | 300375

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejttabletát 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonali folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalakokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

GC-1 spg sejtek | 300375

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.