

GC-1 spg ląstelės | 300375

Bendra informacija

Description

GC-1 spg ląstelių linija buvo imortalizuota transfekcijos būdu su pSV3-neo plazmide, kurioje yra SV40 didelio T antigeno ir atsparumo neomicinui koduojančios sekos. Ši genetinė modifikacija ne tik suteikia atsparumą tam tikriems antibiotikams, bet ir skatina nenutrūkstamą ląstelių augimą, nes pakeičia jų ląstelių ciklo reguliavimą, taip apeinant pirminės ląstelės būdingą Hayflicko ribą. Šis imortalizacijos procesas leidžia ląstelėms išlaikyti proliferacinį pajėgumą, kartu išlaikant pagrindines spermatogonijų fenotipines savybes.

Fenotipiškai GC-1 spg ląstelių linija pasižymi savybėmis, rodančiomis pereinamąją stadiją tarp B tipo spermatogonijų ir pirminių spermatocitų, todėl ji yra ypač tinkamas modelis ankstyvosios spermatogenezės stadijoms tirti. Ląstelės ekspresuoja du sėklidės būdingus izoproteinus: citochromą c ir laktato dehidrogenazę C4. Šie žymenys yra labai svarbūs tiriant ląstelių metabolizmą ir energijos valdymą spermatogenezės metu, nes atspindi unikalius lytinėse ląstelėse veikiančius medžiagų apykaitos kelius. Šių specifinių izoproteinų raiška pabrėžia ląstelių linijos naudingumą tiriant biocheminius ir fiziologinius sėklidžių ląstelių funkcijos ir vystymosi aspektus.

Organism Pelė

Tissue Sėklidės

Applications 3D ląstelių kultūra

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

Charakteristikos

Breed/Subspecies BALB/c

Age 10 dienų

Gender Vyras

Morphology Epitelis

Cell type Spermatocitai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation GC-1 spg (Cytion katalogo numeris 300375)

GC-1 spg ląstelės | 300375

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_8872**GMO Status** GMO-S1: Šioje pelių sėklidžių ląstelių linijoje (GC-1 spg) yra SV40 T-antigeno ekspresijos plazmidė (pSV3neo), įskaitant Tn5-neo atsparumo žymenį, kuris palaiko imortalizaciją. Konstruktas stabiliai integruotas į pelių spermatogonines ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.**Biomolekuliniai duomenys****Viruses** Transformantas: Simiano viruso 40 (SV40) T antigenas**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

GC-1 spg ląstelės | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

GC-1 spg ląstelės | 300375

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.