

GC-1 spg šūnas | 300375

Vispārīga informācija

Description

GC-1 spg šūnu līnija tika imortalizēta, izmantojot transfekciju ar pSV3-neo plazmīdu, kurā ir SV40 lielā T antigēna un neomicīna rezistences kodēšanas sekvences. Šī ģenētiskā modifikācija ne tikai nodrošina rezistenci pret noteiktām antibiotikām, bet arī veicina nepārtrauktu šūnu augšanu, mainot to šūnu cikla regulāciju, tādējādi apejot primārajām šūnām raksturīgo Hayflick robežu. Šis imortalizācijas process ļauj šūnām saglabāt proliferācijas spēju, vienlaikus saglabājot spermatogoniju galvenās fenotipiskās īpašības.

Fenotipiski GC-1 spg šūnu līnijai piemīt īpašības, kas norāda uz pārejas posmu starp B tipa spermatogonijām un primārajiem spermatocītiem, padarot to par īpaši piemērotu modeli spermatogēzes agrīno stadiju izpētei. Šūnas ekspresē divus sēklinieku specifiskus izoproteīnus: citohromu c un laktāta dehidrogenāzi C4. Šiem marķieriem ir izšķiroša nozīme, lai pētītu šūnu metabolismu un enerģijas pārvaldību spermatogēzes laikā, atspoguļojot unikālos metabolisma ceļus, kas aktīvi darbojas dzimumšūnās. Šo specifisko izoproteīnu ekspresija uzsver šūnu līnijas lietderību sēklinieku šūnu funkcijas un attīstības bioķīmisko un fizioloģisko aspektu izpētē.

Organism

Pele

Tissue

Testis

Applications

3D šūnu kultūras

Synonyms

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

Raksturojums

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

10 dienas

Gender

Vīrieši

Morphology

Epitēlija

Cell type

Spermatocīti

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

GC-1 spg (Cytion kataloga numurs 300375)

GC-1 spg šūnas | 300375

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_8872**GMO Status** GMO-S1: Šī peļu sēklinieku šūnu līnija (GC-1 spg) satur SV40 T-antagēna ekspresijas plazmīdu (pSV3neo), tostarp Tn5-neo rezistences marķieri, kas veicina imortalizāciju. Konstrukts ir stabili integrēts peļu spermatogonālajās šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: Sīmiāna vīrusa 40 (SV40) T antigēns**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

GC-1 spg šūnas | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

GC-1 spg šūnas | 300375

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.