

GC-1 spg Cellen | 300375

Algemene informatie

Description

De GC-1 spg cellijn werd geïmmortaliseerd door transfectie met het pSV3-neo plasmide, dat de coderende sequenties bevat voor het SV40 grote T antigeen en neomycine resistentie. Deze genetische modificatie zorgt niet alleen voor resistentie tegen bepaalde antibiotica, maar bevordert ook de continue groei van de cellen door hun celcyclusregulatie te veranderen, waardoor de Hayflick-limiet, typisch voor primaire cellen, wordt omzeild. Dit proces van immortalisatie stelt de cellen in staat om hun proliferatieve capaciteit te behouden met behoud van de belangrijkste fenotypische kenmerken van spermatogonia.

Fenotypisch vertoont de GC-1 spg cellijn kenmerken die indicatief zijn voor een overgangsstadium tussen type B spermatogonia en primaire spermatocyten, waardoor het een bijzonder relevant model is voor het bestuderen van de vroege stadia van spermatogenese. De cellen brengen twee testis-specifieke isoproteïnen tot expressie: cytochroom c en lactaatdehydrogenase C4. Deze markers zijn cruciaal voor het bestuderen van celmetabolisme en energiebeheer tijdens spermatogenese, omdat ze de unieke metabolische routes weerspiegelen die actief zijn in kiemcellen. De expressie van deze specifieke isoproteïnen onderstreept het nut van de cellijn voor het onderzoeken van de biochemische en fysiologische aspecten van testiculaire celfunctie en ontwikkeling.

Organism

Muis

Tissue

Testikel

Applications

3D-celcultuur

Synonyms

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

Kenmerken

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

10 dagen

Gender

Mannelijk

Morphology

Epitheel

Cell type

Spermatocyt

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

GC-1 spg Cellen | 300375**Citation** GC-1 spg (Cytion catalogusnummer 300375)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_8872**GMO Status** GMO-S1: Deze murine testiscellijn (GC-1 spg) bevat een SV40 T-antigeenexpressieplasmide (pSV3neo) inclusief een Tn5-neo-resistentiemarker, ter ondersteuning van immortalisatie. Het construct is stabiel geïntegreerd in spermatogonia cellen van de muis. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40) T-antigeen**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

GC-1 spg Cellen | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

GC-1 spg Cellen | 300375

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

PEZ6: TK6