

GC-1 spg-celler | 300375

Generell informasjon

Description

GC-1 spg-cellelinjen ble udødeliggjort gjennom transfeksjon med pSV3-neo plasmidet, som inneholder de kodende sekvensene for SV40 large T-antigenet og neomycinresistens. Denne genetiske modifikasjonen gir ikke bare resistens mot visse antibiotika, men fremmer også kontinuerlig vekst av cellene ved å endre cellesyklusreguleringen, slik at man omgår Hayflick-grensen som er typisk for primærceller. Denne udødeliggjøringsprosessen gjør at cellene kan opprettholde sin proliferative kapasitet samtidig som de beholder spermatogoniens fenotypiske egenskaper.

Fenotypisk sett har GC-1 spg-cellelinjen egenskaper som indikerer et overgangsstadium mellom type B-spermatogonier og primære spermatocytter, noe som gjør den til en spesielt relevant modell for å studere de tidlige stadiene av spermatogenesen. Cellene uttrykker to testisspesifikke isoproteiner: cytokrom c og laktatdehydrogenase C4. Disse markørene er avgjørende for å studere cellemetabolisme og energistyring under spermatogenesen, og gjenspeiler de unike metabolske veiene som er aktive i kjønncellene. Uttrykket av disse spesifikke isoproteinene understreker cellelinjens anvendelighet i utforskningen av de biokjemiske og fysiologiske aspektene ved testikkelcellenes funksjon og utvikling.

Organism

Mus

Tissue

Testis

Applications

3D-cellekultur

Synonyms

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

10 dager

Gender

Mann

Morphology

Epitelial

Cell type

Spermatocytt

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

GC-1 spg-celler | 300375

Citation	GC-1 spg (Cytion katalognummer 300375)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_8872
GMO Status	GMO-S1: Denne testiscellelinjen fra mus (GC-1 spg) inneholder et SV40 T-antigenekspresjonsplasmid (pSV3neo), inkludert en Tn5-neo-resistensmarkør, som støtter udødeliggjøring. Konstruktet er stabilt integrert i spermatogoniale celler fra mus. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40) T-antigen
----------------	--

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

GC-1 spg-celler | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

GC-1 spg-celler | 300375

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

PEZ6: TK6