

Celice GC-1 spg | 300375

Splošne informacije

Description

Celična linija GC-1 spg je bila immortalizirana s transfekcijo s plazmidom pSV3-neo, ki vsebuje kodirna zaporedja za antigen SV40 large T in odpornost proti neomicinu. Ta genetska sprememba ne zagotavlja le odpornosti proti nekaterim antibiotikom, temveč tudi spodbuja stalno rast celic s spreminjanjem regulacije njihovega celičnega cikla, s čimer se zaobide Hayflickova meja, značilna za primarne celice. Ta proces immortalizacije omogoča celicam, da ohranijo proliferacijsko sposobnost in hkrati ključne fenotipske značilnosti spermatogonije.

Fenotipsko ima celična linija GC-1 spg značilnosti, ki kažejo na prehodno stopnjo med spermatogonijo tipa B in primarnimi spermatociti, zato je še posebej primeren model za preučevanje zgodnjih faz spermatogeneze. Celice izražajo dva izoproteina, specifična za testis: citokrom c in laktatno dehidrogenazo C4. Ta označevalca sta ključna za preučevanje celične presnove in upravljanja energije med spermatogenezo, saj odražata edinstvene presnovne poti, ki delujejo v zarodnih celicah. Izražanje teh specifičnih izoproteinov poudarja uporabnost celične linije pri raziskovanju biokemičnih in fizioloških vidikov delovanja in razvoja semenčičnih celic.

Organism

Miška

Tissue

Testis

Applications

3D gojenje celic

Synonyms

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

Značilnosti

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

10 dni

Gender

Moški

Morphology

Epitelijski

Cell type

Spermatociti

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

GC-1 spg (kataloška številka Cytion 300375)

Celice GC-1 spg | 300375

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_8872**GMO Status** GSO-S1: Ta linija celic mišjega testisa (GC-1 spg) vsebuje plazmid za izražanje T-antigena SV40 (pSV3neo), vključno z markerjem odpornosti Tn5-neo, ki podpira imortalizacijo. Konstrukt je stabilno integriran v mišje spermatogonijske celice. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Viruses** Transformant: antigen T simskega virusa 40 (SV40)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Celice GC-1 spg | 300375

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice GC-1 spg | 300375

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.