Product sheet

GT1-7 клетки | 305779

Обща информация

Description	GT1-7 е клонирана подлиния от безсмъртни хипоталамични неврони на мишки, които синтезират и секретират гонадотропин-освобождаващ хормон (GnRH), известен също като лутеинизиращ хормон-освобождаващ хормон (LHRH). Тези клетки са разработени чрез генетично насочена туморогенеза, използвайки трансгенен миши модел, в който големият Т-антиген SV40 се експресира под контрола на промотора на гена GnRH. Тази стратегия доведе до хипоталамични тумори, от които бяха получени няколко клетъчни линии, секретиращи GnRH, включително GT1-1, GT1-3 и GT1-7. GT1-7 клетките проявяват диференциран невронен фенотип, включително експресия на неврон-специфични маркери като неврофиламентни протеини, неврон-специфична енолаза, протеини, свързани със синаптични везикули (VAMP-2, SNAP-25) и хромогранин B. Те не експресират глиални маркери като GFAP или миелинови протеини, което потвърждава тяхната невронна идентичност. Функционално, GT1-7 клетките експресират ендогенен GnRH mRNA и секретират GnRH в епизодичен модел. Те притежават пълния механизъм за преобразуване на про-GnRH в зрял, биоактивен GnRH, включително необходимите ендопептидази, карбоксипептидази и амидиращи ензими. Тези клетки също секретират GnRH-асоциран пептид (GAP), страничен продукт от преработката на про-GnRH. Биохимичната характеристика разкрива множество молекулни форми както на про-GnRH, така и на зрял GnRH в GT1-7 клетките и в културната среда, което показва активна посттранслационна преработка. GnRH, секретиран от GT1-7, е биологично активен и способен да стимулира освобождаването на LH от клетките на предния хипофизен жлеза in vitro. GT1-7 клетките проявяват ниска миграционна активност in vitro, за разлика от други GnRH клетъчни линии като GN11, които са получени от по-незрели, миграционни GnRH неврони. GT1-7 клетките се считат за представителни за постмиграционни, хипоталамични GnRH неврони и образуват плътно свързани, свързани с неврити колонии в култура. Липсата им на подвижност, съчетана с зрели невронни характеристики и реактивност към регулаторни фактори, ги прави мощен модел за изучаване на генната регулация, контрола на развитието и секреторната физиология на хипоталамичните GnRH неврони.
Organism	Мишка
Tissue	Мозък, хипоталамус

Характеристики

Cell type	GnRH неврон
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	GT1-7 (каталожен номер на Cytion 305779)

GT1-7 клетки | 305779

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0281
GMO Status	GMO-S1: Тази невронна линия GT1-7 съдържа трансген SV40 голям Т-антиген под контрола на GnRH промотор за изследвания на секрецията на GnRH. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Mutational profile	

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

GT1-7 клетки | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.