

GT1-7-celler | 305779

General information

Description

GT1-7 er en klonal sublinje af immortalisering af hypothalamiske neuroner fra mus, der syntetiserer og udskiller gonadotropin-frigivende hormon (GnRH), også kendt som luteiniserende hormon-frigivende hormon (LHRH). Disse celler blev udviklet gennem genetisk målrettet tumorigenese ved hjælp af en transgen musemodel, hvor SV40 large T-antigen blev udtrykt under kontrol af GnRH-genpromotoren. Denne strategi resulterede i hypothalamiske tumorer, hvorfra flere GnRH-udskillende cellelinjer blev afledt, herunder GT1-1, GT1-3 og GT1-7. GT1-7-celler udviser en differentieret neuronal fænotype, herunder ekspression af neuronspecifikke markører såsom neurofilamentproteiner, neuronspecifik enolase, synaptiske vesikel-associerede proteiner (VAMP-2, SNAP-25) og chromogranin B. De udtrykker ikke gliale markører såsom GFAP eller myelinproteiner, hvilket bekræfter deres neuronale identitet.

Funktionelt udtrykker GT1-7-celler endogent GnRH-mRNA og udskiller GnRH i et episodisk mønster. De besidder det fulde behandlingsapparat til at omdanne pro-GnRH til modent, bioaktivt GnRH, herunder de nødvendige endopeptidaser, carboxypeptidaser og amidationsenzymmer. Disse celler udskiller også GnRH-associeret peptid (GAP), et biprodukt af pro-GnRH-behandlingen. Biokemisk karakterisering har afsløret flere molekylære former af både pro-GnRH og modent GnRH i GT1-7-celler og i dyrkningsmediet, hvilket indikerer aktiv posttranslational behandling. GnRH udskilt af GT1-7 er biologisk aktivt og i stand til at stimulere LH-frigivelse fra forreste hypofyseceller in vitro.

GT1-7-celler udviser lav migrationsaktivitet in vitro, i modsætning til andre GnRH-cellelinjer såsom GN11, som stammer fra mere udviklingsmæssigt umodne, migrerende GnRH-neuroner. GT1-7-celler betragtes som repræsentative for postmigratoriske, hypothalamiske GnRH-neuroner og danner tæt forbundne, neurit-forbundne kolonier i kultur. Deres manglende bevægelighed, kombineret med modne neuronale træk og reaktionsevne over for regulerende faktorer, gør dem til en effektiv model for undersøgelse af genregulering, udviklingskontrol og sekretorisk fysiologi af hypothalamiske GnRH-neuroner.

Organism Mus

Tissue Hjerne, hypothalamus

Karakteristika

Cell type GnRH-neuron

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation GT1-7 (Cytion-katalognummer 305779)

Biosafety level 1

GT1-7-celler | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Denne GT1-7-neuronlinje indeholder et SV40-stort T-antigen-transgen under GnRH-promotorkontrol til GnRH-sekretionsundersøgelser. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Mutational profile****Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Som kryopræservingmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

GT1-7-celler | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opbevaring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

GT1-7-celler | 305779

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.