Product sheet

Κύτταρα GT1-7 | 305779

Γενικές πληροφορίες

Description	Το GT1-7 είναι μια κλωνική υπογραμμή αθανατοποιημένων νευρώνων του υποθαλάμου ποντικιών που συνθέτουν και εκκρίνουν την ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης (GnRH), γνωστή και ως ορμόνη απελευθέρωσης ωχρινοτρόπου ορμόνης (LHRH). Αυτά τα κύτταρα αναπτύχθηκαν μέσω γενετικά στοχευμένης καρκινογένεσης χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο διαγονιδιακών ποντικιών στο οποίο το μεγάλο T-αντιγόνο SV40 εκφράστηκε υπό τον έλεγχο του προαγωγού γονιδίου GnRH. Αυτή η στρατηγική οδήγησε σε όγκους υποθαλάμου από τους οποίους προήλθαν διάφορες κυτταρικές σειρές που εκκρίνουν GnRH, συμπεριλαμβανομένων των GT1-1, GT1-3 και GT1-7. Τα κύτταρα GT1-7 εμφανίζουν διαφοροποιημένο νευρωνικό φαινότυπο, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης νευρωνικών ειδικών δεικτών όπως νευροφιλαμεντικές πρωτεΐνες, νευρωνική ειδική ενολάση, πρωτεΐνες που σχετίζονται με συναπτικά κυστίδια (VAMP-2, SNAP-25) και χρωμογρανίνη B. Δεν εκφράζουν γλοιακούς δείκτες όπως GFAP ή μυελινικές πρωτεΐνες, επιβεβαιώνοντας τη νευρωνική τους ταυτότητα. Λειτουργικά, τα κύτταρα GT1-7 εκφράζουν ενδογενές mRNA GnRH και εκκρίνουν GnRH σε επεισοδιακό μοτίβο. Διαθέτουν τον πλήρη μηχανισμό επεξεργασίας για τη μετατροπή του προ-GnRH σε ώριμο, βιοδραστικό GnRH, συμπεριλαμβανομένων των απαιτούμενων ενδοπεπτιδασών, καρβοξυπεπτιδασών και αμιδοποιητικών ενζύμων. Αυτά τα κύτταρα εκκρίνουν επίσης πεπτίδιο σχετιζόμενο με το GnRH (GAP), ένα παραπροϊόν της επεξεργασίας του προ-GnRH. Ο βιοχημικός χαρακτηρισμός έχει αποκαλύψει πολλαπλές μοριακές μορφές τόσο του προ-GnRH όσο και του ώριμου GnRH εντός των κυττάρων GT1-7 και στο μέσο καλλιέργειας, υποδηλώνοντας ενεργή μετα-μεταφραστική επεξεργασία. Το GnRH που εκκρίνεται από τα GT1-7 είναι βιολογικά ενεργό, ικανό να διεγείρει την απελευθέρωση LH από τα κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσης in vitro. Τα κύτταρα GT1-7 εμφανίζουν χαμηλή μεταναστευτική δραστηριότητα in vitro, σε αντίθεση με άλλες κυτταρικές σειρές GnRH, όπως η GN11, που προέρχονται από πιο ανώριμα από αναπτυξιακή άποψη, μεταναστευτικά νευρώνες GnRH. Τα κύτταρα GT1-7 θεωρούνται αντιπροσωπευτικά των μεταναστευτικών, υποθαλαμικών νευρώνων GnRH και σχηματίζουν στενά συνδεδεμένες, νευριτικά συνδεδεμένες αποικίες σε καλλιέργεια. Η έλλειψη κινητικότητας, σε συνδυασμό με τα ώριμα νευρωνικά χαρακτηριστικά και την ανταπόκριση σε ρυθμιστικούς παράγοντες, τα καθιστά ένα ισχυρό μοντέλο για τη μελέτη της γονιδιακής ρύθμισης, του αναπτυξιακού ελέγχου και της εκκριτικής φυσιολογίας των υποθαλαμικών νευρώνων GnRH.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Εγκέφαλος, υποθάλαμος

Χαρακτηριστικά

Cell type	Νευρώνας GnRH
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	GT1-7 (αριθμός καταλόγου Cytion 305779)

Κύτταρα GT1-7 | 305779

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0281
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η νευρωνική σειρά GT1-7 περιέχει ένα μεταγονιδιακό SV40 μεγάλου T-αντιγόνου υπό τον έλεγχο του προαγωγού GnRH για μελέτες έκκρισης GnRH. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα GT1-7 | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.