

GT1-7 rakud | 305779

Üldine teave

Description

GT1-7 on kloonitud alamliin surematutest hiire hüpotalamuse neuronitest, mis sünteesivad ja eritavad gonadotropiini vabastavat hormooni (GnRH), tuntud ka kui luteiniseerivat hormooni vabastavat hormooni (LHRH). Need rakud arendati geneetiliselt suunatud tumorigeense kaudu, kasutades transgeenset hiire mudelit, milles SV40 suur T-antigeen ekspresseeriti GnRH geeni promootori kontrolli all. Selle strateegia tulemusena tekkisid hüpotalamuse kasvavad, millest saadi mitu GnRH-d eritavat rakuliini, sealhulgas GT1-1, GT1-3 ja GT1-7. GT1-7 rakud näitavad diferentseeritud neuronaalset fenotüüpi, sealhulgas neuroni-spetsiifiliste markerite ekspressiooni, nagu neurofilamentvalkud, neuroni-spetsiifiline enolaas, sünaptiliste vesikulitega seotud valgud (VAMP-2, SNAP-25) ja kromogranin B. Nad ei ekspresseeri gliaalsete markerite, nagu GFAP või müeliinivalkude, kinnitades oma neuronaalset identiteeti.

Funktsionaalselt ekspresseerivad GT1-7 rakud endogeenset GnRH mRNA-d ja eritavad GnRH-d episoodiliselt. Neil on täielik töötlemismehhanism pro-GnRH muutmiseks küpseteks, bioaktiivseteks GnRH-deks, sealhulgas vajalikud endopeptidaasid, karboksüpeptidaasid ja amidifitseerivad ensüümid. Need rakud eritavad ka GnRH-ga seotud peptiidi (GAP), mis on pro-GnRH töötlemise kõrvalsaadus. Biokeemiline iseloomustus on näidanud pro-GnRH ja küpsenud GnRH mitmeid molekulaarseid vorme GT1-7 rakkudes ja kultuurikeskkonnas, mis viitab aktiivse posttranslatsiooni töötlemise olemasolule. GT1-7 poolt eritatud GnRH on bioloogiliselt aktiivne ja suudab stimuleerida LH vabanemist eesmise hüpofüüsi rakkudest in vitro.

GT1-7 rakud näitavad in vitro madalat rändevõimet, mis on vastandiks teistele GnRH rakuliinidele, nagu GN11, mis on saadud arenguliselt ebaküpsematest, rändavatest GnRH neuronitest. GT1-7 rakke peetakse postmigratsiooniliste hüpotalamuse GnRH neuronite esindajateks ja need moodustavad kultuuris tihedalt seotud, neuritidega ühendatud kolooniad. Nende liikuvuse puudumine koos küpsete neuronite omaduste ja reguleerivate faktorite suhtes reageerimisvõimega teeb neist võimsa mudeli hüpotalamuse GnRH neuronite geeniregulatsiooni, arengukontrolli ja sekretsioonifüsioloogia uurimiseks.

Organism Hiir

Tissue Aju, hüpotalamus

Omadused

Cell type GnRH neuron

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation GT1-7 (Cytioni katalooginumbr 305779)

Biosafety level 1

GT1-7 rakud | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: See GT1-7 neuronaalne liin sisaldab GnRH sekretsiooni uuringute jaoks GnRH promootori kontrolli all olevat SV40 suure T-antigeeni transgeeni. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Mutational profile****Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

GT1-7 rakud | 305779

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

None

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

GT1-7 rakud | 305779

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.