

GT1-7 sejtek | 305779

Általános információk

Description

A GT1-7 egy klónozott alvonal, amely halhatatlan egér hipotalamusz neuronokból áll, amelyek gonadotropin-felszabadító hormont (GnRH) szintetizálnak és szekretálnak, más néven luteinizáló hormon-felszabadító hormont (LHRH). Ezeket a sejteket genetikailag célzott tumorogenezis révén fejlesztették ki transzgenikus egérmodell segítségével, amelyben az SV40 nagy T-antigén a GnRH gén promóterének irányítása alatt expresszáldott. Ez a stratégia hipotalamusz tumorok kialakulásához vezetett, amelyekből több GnRH-szekretáló sejtvonal származik, beleértve a GT1-1, GT1-3 és GT1-7 sejtvonalakat. A GT1-7 sejtek differenciált neuronális fenotípust mutatnak, beleértve a neuron-specifikus markerek, például a neurofilamentum fehérjék, a neuron-specifikus enoláz, a szinaptikus vezikulákhoz kapcsolódó fehérjék (VAMP-2, SNAP-25) és a kromogranin B expresszióját. Nem expresszálnak glia markereket, például GFAP-t vagy mielin fehérjét, ami megerősíti neuronális identitásukat.

Funkcionálisan a GT1-7 sejtek endogén GnRH mRNS-t expresszálnak és GnRH-t szekretálnak epizodikus mintázatban. Rendelkeznek a pro-GnRH érett, bioaktív GnRH-vá történő átalakításához szükséges teljes feldolgozó mechanizmussal, beleértve a szükséges endopeptidázokat, karboxipeptidázokat és amidáló enzimeket. Ezek a sejtek GnRH-hoz kapcsolódó peptidet (GAP) is szekretálnak, amely a pro-GnRH feldolgozásának mellékterméke. A biokémiai jellemzés feltárta a pro-GnRH és az érett GnRH több molekuláris formáját a GT1-7 sejtekben és a tenyésztőközegben, ami aktív transzlációs utáni feldolgozásra utal. A GT1-7 által kiválasztott GnRH biológiailag aktív, képes stimulálni az LH felszabadulását az agyalapi mirigy elülső sejtjeiből in vitro.

A GT1-7 sejtek in vitro alacsony migrációs aktivitást mutatnak, ellentétben más GnRH sejtvonalakkal, mint például a GN11, amelyek fejlődésileg éretlenebb, migrációs GnRH neuronokból származnak. A GT1-7 sejtek a migráció utáni, hipotalamusz GnRH neuronok reprezentatív képviselőinek tekinthetők, és szorosan összekapcsolt, neuritokkal összekötött kolóniákat alkotnak tenyészetben. Mozgásképtelenségük, érett neuronális tulajdonságaik és szabályozó tényezőkre való reagálóképességük miatt hatékony modellt jelentenek a hipotalamusz GnRH neuronok génszabályozásának, fejlődésük szabályozásának és szekréciós fiziológiájának tanulmányozásához.

Organism Egér

Tissue Agy, hipotalamusz

Jellemzők

Cell type GnRH neuron

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation GT1-7 (Cytion katalógusszám: 305779)

GT1-7 sejtek | 305779

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Ez a GT1-7 neuronális vonal GnRH-szekrécióval kapcsolatos vizsgálatokhoz GnRH-promotor kontroll alatt álló SV40 nagy T-antigén transzgén tartalmaz. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.**Biomolekuláris adatok****Mutational profile****A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

GT1-7 sejtek | 305779

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

GT1-7 sejtek | 305779

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.