

GT1-7 ląstelės | 305779

Bendra informacija

Description

GT1-7 yra kloninė nemirtingų pelių hipotalaminės neuronų, kurie sintezuoja ir išskiria gonadotropiną išskiriantį hormoną (GnRH), taip pat žinomą kaip liuteinizuojantį hormoną išskiriantį hormoną (LHRH), sublinija. Šios ląstelės buvo sukurtos naudojant genetiškai tikslią tumorigenesę, naudojant transgeninių pelių modelį, kuriame SV40 didelis T antigenas buvo išreikštas GnRH geno promotoriaus kontrole. Ši strategija lėmė hipotalaminės navikos atsiradimą, iš kurių buvo gautos kelios GnRH išskiriančios ląstelių linijos, įskaitant GT1-1, GT1-3 ir GT1-7. GT1-7 ląstelės pasižymi diferencijuotu neuroniniu fenotipu, įskaitant neuronams būdingų žymenų, tokių kaip neurofilamentų baltymai, neuronams būdinga enolazė, sinapsinių vezikulių baltymai (VAMP-2, SNAP-25) ir chromograninas B, ekspresiją. Jos neekspresuoja gliolinių žymenų, tokių kaip GFAP ar mielino baltymai, patvirtindamos savo neuroninę tapatybę.

Funkciniu požiūriu GT1-7 ląstelės ekspresuoja endogeninį GnRH mRNR ir išskiria GnRH epizodiniu būdu. Jos turi visą apdorojimo mechanizmą, reikalingą pro-GnRH konvertuoti į brandų, biologiškai aktyvų GnRH, įskaitant reikalingas endopeptidazes, karboksipeptidazes ir amiduojančius fermentus. Šios ląstelės taip pat išskiria GnRH susijusį peptidą (GAP), kuris yra pro-GnRH apdorojimo šalutinis produktas. Biocheminė charakteristika atskleidė daugybę molekulių formų tiek pro-GnRH, tiek subrendusio GnRH GT1-7 ląstelėse ir kultūros terpėje, o tai rodo aktyvų posttransliacinį apdorojimą. GT1-7 išskiriamas GnRH yra biologiškai aktyvus, galintis stimuliuoti LH išsiskyrimą iš priekinės hipofizės ląstelių in vitro.

GT1-7 ląstelės in vitro pasižymi maža migracijos aktyvumu, priešingai nei kitos GnRH ląstelių linijos, pvz., GN11, kurios yra kilusios iš labiau neišsivysčiusių, migruojančių GnRH neuronų. GT1-7 ląstelės laikomos tipinėmis postmigracinėmis hipotalaminėmis GnRH neuronais ir kultūroje sudaro glaudžiai susijusias, neuritų jungtomis kolonijas. Jų judrumo stoka, kartu su subrendusiais neuronų bruožais ir jautrumu reguliavimo veiksniams, daro jas galingu modeliu hipotalaminių GnRH neuronų genų reguliacijos, vystymosi kontrolės ir sekrecijos fiziologijos tyrimams.

Organism Pelė

Tissue Smegenys, hipotalamusas

Charakteristikos

Cell type GnRH neuronas

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation GT1-7 (Cytion katalogo numeris 305779)

Biosafety level 1

GT1-7 ląstelės | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Ši GT1-7 neuronų linija turi SV40 didelio T antigeno transgeną, kontroliuojamą GnRH promotoriaus, skirtą GnRH sekrecijos tyrimams. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Mutational profile****Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

GT1-7 ląstelės | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

GT1-7 ląstelės | 305779

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.