

GT1-7 šūnas | 305779

Vispārīga informācija

Description

GT1-7 ir klonāla apakšlīnija no nemirstīgiem peles hipotalāma neironiem, kas sintēzē un izdalī gonadotropīnu atbrīvojošo hormonu (GnRH), kas pazīstams arī kā luteinizējošā hormona atbrīvojošais hormons (LHRH). Šīs šūnas tika attīstītas, izmantojot ģenētiski mērķētu tumorigenēzi, izmantojot transgēno peles modeli, kurā SV40 lielais T-antigēns tika ekspresēts GnRH gēna promotora kontrolē. Šī stratēģija izraisīja hipotalāma audzēju veidošanos, no kuriem tika iegūtas vairākas GnRH izdalījošas šūnu līnijas, tostarp GT1-1, GT1-3 un GT1-7. GT1-7 šūnas uzrāda diferencētu neironu fenotipu, tostarp neironu specifisku marķieru ekspresiju, piemēram, neofilamentu proteīnus, neironu specifisku enolāzi, sinaptisko vezikulu asociētos proteīnus (VAMP-2, SNAP-25) un hromogranīnu B. Tās neekspresē glijas marķierus, piemēram, GFAP vai mielīna proteīnus, apstiprinot to neironu identitāti.

Funkcionāli GT1-7 šūnas ekspresē endogēno GnRH mRNA un izdalī GnRH epizodiskā veidā. Tām ir pilnīgs apstrādes mehānisms, lai pārvērstu pro-GnRH par nobriedušu, bioaktīvu GnRH, ieskaitot nepieciešamās endopeptidāzes, karboksipeptidāzes un amidējošos fermentus. Šīs šūnas izdalī arī GnRH asociēto peptīdu (GAP), kas ir pro-GnRH apstrādes blakusprodukts. Bioloģiskā raksturojuma analīze ir atklājusi vairākas molekulārās formas gan pro-GnRH, gan nobriedušam GnRH GT1-7 šūnās un kultūras vidē, norādot uz aktīvu pēctranslācijas apstrādi. GT1-7 izdalītais GnRH ir bioloģiski aktīvs un spēj stimulēt LH izdalīšanos no priekšējās hipofīzes šūnām in vitro.

GT1-7 šūnas in vitro uzrāda zemu migrācijas aktivitāti, atšķirībā no citām GnRH šūnu līnijām, piemēram, GN11, kas ir atvasinātas no attīstības ziņā nobriedušākiem, migrējošiem GnRH neironiem. GT1-7 šūnas tiek uzskatītas par reprezentatīvām pēc migrācijas hipotalāma GnRH neironiem un kultūrā veido cieši savienotas, neirītu saistītas kolonijas. To kustīguma trūkums, kopā ar nobriedušām neironu īpašībām un reaģētspēju uz regulējošiem faktoriem, padara tās par spēcīgu modeli hipotalāma GnRH neironu gēnu regulācijas, attīstības kontroles un sekrēcijas fizioloģijas pētīšanai.

Organism Pele

Tissue Smadzenes, hipotalāms

Raksturojums

Cell type GnRH neirons

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation GT1-7 (Cytion kataloga numurs 305779)

Biosafety level 1

GT1-7 šūnas | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Šī GT1-7 neironu līnija satur SV40 lielā T-antigēna transģēnu GnRH promotora kontrolē GnRH sekrēcijas pētījumiem. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Mutational profile****Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

GT1-7 šūnas | 305779

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

None

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

GT1-7 šūnas | 305779

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.