

GT1-7-cellen | 305779

Algemene informatie

Description

GT1-7 is een klonale sublijn van geïmmortaliseerde hypothalamische neuronen van muizen die gonadotropine-releasing hormoon (GnRH), ook bekend als luteïniserend hormoon-releasing hormoon (LHRH), synthetiseren en afscheiden. Deze cellen zijn ontwikkeld door middel van genetisch gerichte tumorigenese met behulp van een transgeen muismodel waarin het SV40 large T-antigeen tot expressie werd gebracht onder controle van de GnRH-genpromotor. Deze strategie resulteerde in hypothalamische tumoren waaruit verschillende GnRH-uitscheidende cellijnen werden afgeleid, waaronder GT1-1, GT1-3 en GT1-7. GT1-7-cellen vertonen een gedifferentieerd neuronale fenotype, waaronder de expressie van neuronspecifieke markers zoals neurofilamentproteïnen, neuronspecifieke enolase, synaptische vesikel-geassocieerde proteïnen (VAMP-2, SNAP-25) en chromogranine B. Ze brengen geen gliale markers zoals GFAP of myelineproteïnen tot expressie, wat hun neuronale identiteit bevestigt.

Functioneel gezien brengen GT1-7-cellen endogeen GnRH-mRNA tot expressie en scheiden ze GnRH af in een episodisch patroon. Ze beschikken over het volledige verwerkingsmechanisme om pro-GnRH om te zetten in volwassen, bioactief GnRH, inclusief de vereiste endopeptidasen, carboxypeptidasen en amidatie-enzymen. Deze cellen scheiden ook GnRH-geassocieerd peptide (GAP) af, een bijproduct van de verwerking van pro-GnRH. Biochemische karakterisering heeft meerdere moleculaire vormen van zowel pro-GnRH als volwassen GnRH in GT1-7-cellen en in het kweekmedium aan het licht gebracht, wat wijst op actieve posttranslationale verwerking. Het door GT1-7 uitgescheiden GnRH is biologisch actief en in staat om in vitro de afgifte van LH uit cellen van de hypofysevoorkwab te stimuleren.

GT1-7-cellen vertonen in vitro een lage migratieactiviteit, in tegenstelling tot andere GnRH-cellijnen zoals GN11, die zijn afgeleid van meer ontwikkelingsmatig onvolgroeide, migrerende GnRH-neuronen. GT1-7-cellen worden beschouwd als representatief voor post-migrerende, hypothalamische GnRH-neuronen en vormen in kweek nauw verbonden, met neurieten verbonden kolonies. Hun gebrek aan beweeglijkheid, in combinatie met volwassen neuronale eigenschappen en reactievermogen op regulerende factoren, maakt ze tot een krachtig model voor het bestuderen van genregulatie, ontwikkelingscontrole en secretiefysiologie van hypothalamische GnRH-neuronen.

Organism Muis

Tissue Hersenen, hypothalamus

Kenmerken

Cell type GnRH-neuron

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation GT1-7 (Cytion-catalogusnummer 305779)

GT1-7-cellen | 305779

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Deze GT1-7 neuronale lijn bevat een SV40 groot T-antigeen transgen onder GnRH-promotorcontrole voor GnRH-secretieonderzoek. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders verschillen.**Biomoleculaire gegevens****Mutational profile****Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

GT1-7-cellen | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opslag bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

GT1-7-cellen | 305779

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.