

GT1-7-celler | 305779

Generell informasjon

Description

GT1-7 er en klonal sublinje av immortalisert musehypotalamusneuroner som syntetiserer og utskiller gonadotropinfrigivende hormon (GnRH), også kjent som luteiniserende hormonfrigivende hormon (LHRH). Disse cellene ble utviklet gjennom genetisk målrettet tumorigenese ved hjelp av en transgen musmodell der SV40 stort T-antigen ble uttrykt under kontroll av GnRH-genpromotoren. Denne strategien resulterte i hypotalamiske svulster hvorfra flere GnRH-sekreterende cellelinjer ble avledet, inkludert GT1-1, GT1-3 og GT1-7. GT1-7-celler viser en differensiert nevronfenotype, inkludert uttrykk av nevronspesifikke markører som neurofilamentproteiner, nevronspesifikk enolase, synaptiske vesikkelassosierte proteiner (VAMP-2, SNAP-25) og kromogranin B. De uttrykker ikke glialmarkører som GFAP eller myelinproteiner, noe som bekrefter deres nevronidentitet.

Funksjonelt uttrykker GT1-7-celler endogent GnRH-mRNA og sekreterer GnRH i et episodisk mønster. De har hele prosesseringsmekanismen for å omdanne pro-GnRH til modent, bioaktivt GnRH, inkludert de nødvendige endopeptidaser, karboksypeptidaser og amidaterende enzymer. Disse cellene sekreterer også GnRH-assosiert peptid (GAP), et biprodukt av pro-GnRH-prosessering. Biokjemisk karakterisering har avdekket flere molekylære former av både pro-GnRH og modent GnRH i GT1-7-celler og i dyrkningsmediet, noe som indikerer aktiv posttranslasjonell prosessering. GnRH som utskilles av GT1-7 er biologisk aktivt og kan stimulere LH-frigjøring fra hypofyseceller in vitro.

GT1-7-celler viser lav migrasjonsaktivitet in vitro, i motsetning til andre GnRH-cellelinjer som GN11, som stammer fra mer utviklingsmessig umodne, migrerende GnRH-nevroner. GT1-7-celler anses å være representative for postmigrerende, hypothalamiske GnRH-neuroner og danner tett forbundne, nevriltkoblede kolonier i kultur. Deres manglende bevegelighet, kombinert med modne nevronale egenskaper og respons på regulatoriske faktorer, gjør dem til en kraftig modell for å studere genregulering, utviklingskontroll og sekretorisk fysiologi hos hypothalamiske GnRH-neuroner.

Organism Mus

Tissue Hjerne, hypothalamus

Kjennetegn

Cell type GnRH-nevron

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation GT1-7 (Cytion katalognummer 305779)

Biosafety level 1

GT1-7-celler | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Denne GT1-7-neuronlinjen inneholder et SV40 stort T-antigen-transgen under GnRH-promotorkontroll for GnRH-sekresjonsstudier. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.**Biomolekylære data****Mutational profile****Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

GT1-7-celler | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lagring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

GT1-7-celler | 305779

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.