

GT1-7-celler | 305779

Allmän information

Description

GT1-7 är en klonal sublinje av odödliga hypotalamiska nervceller från möss som syntetiserar och utsöndrar gonadotropinfrisättande hormon (GnRH), även känt som luteiniserande hormonfrisättande hormon (LHRH). Dessa celler utvecklades genom genetiskt riktad tumörbildning med hjälp av en transgen musmodell där SV40 large T-antigen uttrycktes under kontroll av GnRH-genpromotorn. Denna strategi resulterade i hypotalamiska tumörer från vilka flera GnRH-utsöndrande cellinjer härleddes, inklusive GT1-1, GT1-3 och GT1-7. GT1-7-celler uppvisar en differentierad neuronal fenotyp, inklusive uttryck av neuronspecifika markörer såsom neurofilamentproteiner, neuronspecifika enolas, synaptiska vesikelassocierade proteiner (VAMP-2, SNAP-25) och kromogranin B. De uttrycker inte glialmarkörer såsom GFAP eller myelinproteiner, vilket bekräftar deras neuronala identitet.

Funktionellt uttrycker GT1-7-celler endogent GnRH-mRNA och utsöndrar GnRH i ett episodiskt mönster. De har den fullständiga bearbningsmekanismen för att omvandla pro-GnRH till moget, bioaktivt GnRH, inklusive de nödvändiga endopeptidaserna, karboxypeptidaserna och amidatiserande enzymerna. Dessa celler utsöndrar också GnRH-associerat peptid (GAP), en biprodukt av pro-GnRH-bearbetning. Biokemisk karakterisering har avslöjat flera molekylära former av både pro-GnRH och moget GnRH i GT1-7-celler och i odlingsmediet, vilket indikerar aktiv posttranslationell bearbetning. GnRH som utsöndras av GT1-7 är biologiskt aktivt och kan stimulera LH-frisättning från främre hypofyseceller in vitro.

GT1-7-celler uppvisar låg migrationsaktivitet in vitro, till skillnad från andra GnRH-cellinjer såsom GN11, som härrör från mer utvecklingsmässigt omogna, migrerande GnRH-neuroner. GT1-7-celler anses vara representativa för postmigrerande, hypotalamiska GnRH-neuroner och bildar tätt sammankopplade, neuritlänkade kolonier i odling. Deras brist på rörlighet, i kombination med mogna neuronala egenskaper och respons på regulatoriska faktorer, gör dem till en kraftfull modell för att studera genreglering, utvecklingskontroll och sekretionsfysiologi hos hypotalamiska GnRH-neuroner.

Organism Mus

Tissue Hjärna, hypotalamus

Egenskaper

Cell type GnRH-neuron

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation GT1-7 (Cytion-katalognummer 305779)

Biosafety level 1

GT1-7-celler | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Denna GT1-7-neuronlinje innehåller ett SV40-stort T-antigen-transgen under GnRH-promotorkontroll för GnRH-sekretionsstudier. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Mutational profile****Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

GT1-7-celler | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C . Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

GT1-7-celler | 305779

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.