

GT1-7 bunky | 305779

Všeobecné informácie

Description

GT1-7 je klonálna podlínica nesmrteľných hypotalamických neurónov myši, ktoré syntetizujú a vylučujú hormón uvoľňujúci gonadotropín (GnRH), známy aj ako hormón uvoľňujúci luteinizačný hormón (LHRH). Tieto bunky boli vyvinuté prostredníctvom geneticky cieleného tumorigenézy s použitím transgenického myšieho modelu, v ktorom bol veľký T-antigén SV40 exprimovaný pod kontrolou promotora génu GnRH. Táto stratégia viedla k vzniku hypotalamických nádorov, z ktorých bolo odvodených niekoľko buniek vylučujúcich GnRH, vrátane GT1-1, GT1-3 a GT1-7. Bunky GT1-7 vykazujú diferencovaný neuronálny fenotyp, vrátane expície neuronovo-špecifických markerov, ako sú neurofilamentové proteíny, neuronovo-špecifická enoláza, proteíny asociované so synaptickými vezikulami (VAMP-2, SNAP-25) a chromogranín B. Nevyjadrujú gliové markery, ako sú GFAP alebo myelínové proteíny, čo potvrdzuje ich neuronálnu identitu.

Funkčne bunky GT1-7 exprimujú endogénnu mRNA GnRH a vylučujú GnRH v epizodickom vzore. Disponujú kompletným spracovateľským mechanizmom na konverziu pro-GnRH na zrelý, bioaktívny GnRH, vrátane potrebných endopeptidáz, karboxypeptidáz a amidovacích enzýmov. Tieto bunky tiež vylučujú peptid asociovaný s GnRH (GAP), vedľajší produkt spracovania pro-GnRH. Biochemická charakterizácia odhalila viacero molekulárnych foriem pro-GnRH aj zrelého GnRH v bunkách GT1-7 a v kultivačnom médiu, čo naznačuje aktívne posttranslačné spracovanie. GnRH vylučovaný GT1-7 je biologicky aktívny a schopný stimulovať uvoľňovanie LH z buniek predného hypofýzu in vitro.

Bunky GT1-7 vykazujú nízku migračnú aktivitu in vitro, čo je v kontraste s inými bunkovými líniami GnRH, ako je GN11, ktoré pochádzajú z vývojovo nezrelých, migrujúcich neurónov GnRH. Bunky GT1-7 sa považujú za reprezentatívne pre postmigračné hypotalamické neuróny GnRH a v kultúre tvoria tesne prepojené kolónie spojené neuritmi. Ich nedostatok pohyblivosti v spojení so zrelými neurónovými vlastnosťami a citlivosťou na regulačné faktory z nich robí výkonný model na štúdium génovej regulácie, kontroly vývoja a sekrečnej fyziológie hypotalamických neurónov GnRH.

Organism Myš

Tissue Mozog, hypotalamus

Charakteristika

Cell type GnRH neurón

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation GT1-7 (číslo katalógu Cytion 305779)

Biosafety level 1

GT1-7 bunky | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Táto neurónová línia GT1-7 obsahuje transgen SV40 veľkého T-antigénu pod kontrolou promotora GnRH na účely štúdia sekrécie GnRH. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Mutational profile****Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

GT1-7 bunky | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

GT1-7 bunky | 305779

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.