

GT1-7 celice | 305779

Splošne informacije

Description

GT1-7 je klonska podvrsta nesmrtnih hipotalamičnih nevronov miši, ki sintetizirajo in izločajo gonadotropin sproščajoči hormon (GnRH), znan tudi kot luteinizirajoči hormon sproščajoči hormon (LHRH). Te celice so bile razvite z genetsko usmerjeno tumorigenozo z uporabo transgenega mišjega modela, v katerem je bil velik T-antigen SV40 izražen pod nadzorom promotornega gena GnRH. Ta strategija je povzročila hipotalamične tumorje, iz katerih je bilo pridobljenih več celičnih linij, ki izločajo GnRH, vključno z GT1-1, GT1-3 in GT1-7. Celice GT1-7 kažejo diferenciran nevrnski fenotip, vključno z izražanjem nevrnsko specifičnih markerjev, kot so neurofilamentne beljakovine, nevrnsko specifična enolaza, beljakovine, povezane s sinaptičnimi vezikuli (VAMP-2, SNAP-25), in kromogranin B. Ne izražajo glijalnih markerjev, kot so GFAP ali mielinske beljakovine, kar potrjuje njihovo nevrnsko identiteto.

Funkcionalno celice GT1-7 izražajo endogeni GnRH mRNA in izločajo GnRH v epizodnem vzorcu. Imajo celoten procesni mehanizem za pretvorbo pro-GnRH v zreli, bioaktiven GnRH, vključno z zahtevanimi endopeptidazami, karboksipeptidazami in amidirajočimi encimi. Te celice izločajo tudi peptid, povezan z GnRH (GAP), stranski produkt procesiranja pro-GnRH. Biokemična karakterizacija je razkrila več molekularnih oblik tako pro-GnRH kot zrelega GnRH v GT1-7 celicah in v kultivnem mediju, kar kaže na aktivno posttranslacijsko predelavo. GnRH, ki ga izloča GT1-7, je biološko aktiven in sposoben stimulirati sproščanje LH iz celic sprednje hipofize in vitro.

GT1-7 celice kažejo nizko migracijsko aktivnost in vitro, v nasprotju z drugimi GnRH celičnimi linijami, kot je GN11, ki izhajajo iz razvojno nezrelih, migracijskih GnRH nevronov. GT1-7 celice veljajo za reprezentativne za postmigracijske hipotalamične GnRH nevrone in v kulturi tvorijo tesno povezane kolonije, povezane z nevrini. Njihova pomanjkljiva motilnost, skupaj z zreliimi nevrnskimi lastnostmi in odzivnostjo na regulativne faktorje, jih naredi močan model za preučevanje genetske regulacije, razvojnega nadzora in fiziologije izločanja hipotalamičnih GnRH nevronov.

Organism Miška

Tissue Možgani, hipotalamus

Značilnosti

Cell type GnRH nevron

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation GT1-7 (številka kataloga Cytion 305779)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

GT1-7 celice | 305779

CellosaurusAccession CVCL_0281

GMO Status GMO-S1: Ta nevrnska linija GT1-7 vsebuje transgen SV40 velikega T-antigena pod nadzorom promotorja GnRH za študije izločanja GnRH. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugod razlikuje.

Biomolekularni podatki

Mutational profile

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

GT1-7 celice | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Shranjevanje pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

GT1-7 celice | 305779

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.