

GT1-7 Hücreleri | 305779

Genel bilgi

Description

GT1-7, luteinize edici hormon salgılatıcı hormon (LHRH) olarak da bilinen gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezleyen ve salgılayan ölümsüzleştirilmiş fare hipotalamik nöronlarının klonal bir alt hattıdır. Bu hücreler, GnRH gen promotörünün kontrolü altında SV40 büyük T-antijeni eksprese edilen transgenik fare modeli kullanılarak genetik olarak hedeflenmiş tümör oluşumu yoluyla geliştirilmiştir. Bu strateji, GT1-1, GT1-3 ve GT1-7 dahil olmak üzere birkaç GnRH salgılayan hücre hattının türediği hipotalamik tümörlerle sonuçlanmıştır. GT1-7 hücreleri, nörofilament proteinleri, nöron spesifik enolaz, sinaptik vezikül ile ilişkili proteinler (VAMP-2, SNAP-25) ve kromogranin B gibi nöron spesifik belirteçlerin ekspresyonu dahil olmak üzere farklılaşmış bir nöronal fenotip sergilerler. GFAP veya miyelin proteinleri gibi glial belirteçleri eksprese etmezler, bu da nöronal kimliklerini doğrular.

Fonksiyonel olarak, GT1-7 hücreleri endojen GnRH mRNA'yı eksprese eder ve GnRH'yi epizodik bir modelde salgılar. Pro-GnRH'yi olgun, biyoaktif GnRH'ye dönüştürmek için gerekli endopeptidazlar, karboksipeptidazlar ve amidatlama enzimleri dahil olmak üzere tam işleme mekanizmasına sahiptirler. Bu hücreler ayrıca pro-GnRH işleminin bir yan ürünü olan GnRH ile ilişkili peptidi (GAP) salgılar. Biyokimyasal karakterizasyon, GT1-7 hücreleri içinde ve kültür ortamında hem pro-GnRH hem de olgun GnRH'nin çoklu moleküler formlarını ortaya çıkarmış ve bu da aktif post-translasyonel işlemeyi göstermektedir. GT1-7 tarafından salgılanan GnRH biyolojik olarak aktiftir ve in vitro olarak ön hipofiz hücrelerinden LH salınımını uyarabilir.

GT1-7 hücreleri, daha gelişmemiş, göçmen GnRH nöronlarından türetilen GN11 gibi diğer GnRH hücre hatlarının aksine, in vitro olarak düşük göçmenlik aktivitesi sergiler. GT1-7 hücreleri, göç sonrası hipotalamik GnRH nöronlarının temsilcisi olarak kabul edilir ve kültürde sıkı bir şekilde bağlantılı, nörit bağlantılı koloniler oluşturur. Hareket kabiliyetlerinin olmaması, olgun nöronal özellikleri ve düzenleyici faktörlere duyarlılıkları, onları hipotalamik GnRH nöronlarının gen düzenlemesi, gelişim kontrolü ve salgı fizyolojisini incelemek için güçlü bir model haline getirir.

Organism Fare

Tissue Beyin, hipotalamus

Özellikler

Cell type GnRH nöronu

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation GT1-7 (Cytion katalog numarası 305779)

Biosafety level 1

GT1-7 Hücreleri | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Bu GT1-7 nöronal hattı, GnRH salgılama çalışmaları için GnRH promotör kontrolü altında bir SV40 büyük T-antijen transgeni içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

GT1-7 Hücreleri | 305779

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Storage
Conditions**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

GT1-7 Hücreleri | 305779

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.