Product sheet

Клітини GT1-7 | 305779

Загальна інформація

Description	GT1-7 — це клонована сублінія безсмертних нейронів гіпоталамуса мишей, які синтезують і секретують гонадотропін-рилізинг-гормон (GnRH), також відомий як лютеїнізуючий гормон-рилізинг-гормон (LHRH). Ці клітини були розроблені шляхом генетично спрямованої пухлиноутворення з використанням трансгенної мишачої моделі, в якій великий Т-антиген SV40 експресувався під контролем промотора гена GnRH. Ця стратегія призвела до утворення гіпоталамічних пухлин, з яких було отримано кілька клітинних ліній, що секретують GnRH, включаючи GT1-1, GT1-3 та GT1-7. Клітини GT1-7 демонструють диференційований нейрональний фенотип, включаючи експресію нейроспецифічних маркерів, таких як нейрофіламентні білки, нейроспецифічна енолаза, білки, пов'язані з синаптичними везикулами (VAMP-2, SNAP-25), та хромогранін B. Вони не експресують гліальних маркерів, таких як GFAP або мієлінові білки, що підтверджує їх нейрональну ідентичність. Функціонально клітини GT1-7 експресують ендогенну мРНК GnRH і секретують GnRH в епізодичному режимі. Вони володіють повним механізмом перетворення про-GnRH в зрілий, біоактивний GnRH, включаючи необхідні ендопептидази, карбоксипептидази та амідирувальні ферменти. Ці клітини також секретують пептид, асоційований з GnRH (GAP), побічний продукт перетворення про-GnRH. Біохімічна характеристика виявила множинні молекулярні форми як про-GnRH, так і зрілого GnRH в клітинах GT1-7 і в культуральному середовищі, що вказує на активну посттрансляційну обробку. GnRH, що секретується GT1-7, є біологічно активним і здатним стимулювати вивільнення ЛГ з клітин передньої частки гіпофіза in vitro. Клітини GT1-7 виявляють низьку міграційну активність in vitro, на відміну від інших клітинних ліній GnRH, таких як GN11, які походять від більш незрілих у розвитку міграційних нейронів GnRH. Клітини GT1-7 вважаються репрезентативними для постміграційних гіпоталамічних GnRH-нейронів і утворюють тісно пов'язані, пов'язані нейритами колонії в культурі. Їх відсутність рухливості, поєднана зі зрілими нейрональними рисами та чутливістю до регуляторних факторів, робить їх потужною моделлю для вивчення регуляції генів, контролю розвитку та секреторної фізіології гіпоталамічних GnRH-нейронів.
Organism	Миша
Tissue	Мозок, гіпоталамус

Характеристики

Cell type	Нейрон ГнРГ
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	GT1-7 (номер у каталозі Cytion 305779)

Клітини GT1-7 | 305779

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0281
GMO Status	GMO-S1: Ця нейрональна лінія GT1-7 містить трансген великого Т-антигену SV40 під контролем промотора GnRH для досліджень секреції GnRH. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Mutational profile	

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини GT1-7 | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.