

Buňky GT1-7 | 305779**Obecné informace****Description**

GT1-7 je klonální podlinie immortalizovaných neuronů hypotalamu myši, které syntetizují a vylučují gonadotropin uvolňující hormon (GnRH), známý také jako luteinizační hormon uvolňující hormon (LHRH). Tyto buňky byly vyvinuty prostřednictvím geneticky cílené tumorogeneze pomocí transgenního myšního modelu, ve kterém byl velký T-antigen SV40 exprimován pod kontrolou promotoru genu GnRH. Tato strategie vedla k vzniku hypotalamických nádorů, z nichž bylo odvozeno několik buněčných linií vylučujících GnRH, včetně GT1-1, GT1-3 a GT1-7. Buňky GT1-7 vykazují diferencovaný neuronální fenotyp, včetně exprese neuronově specifických markerů, jako jsou neurofilamentové proteiny, neuronově specifická enoláza, proteiny asociované se synaptickými vezikuly (VAMP-2, SNAP-25) a chromogranin B. Nevyjadřují gliální markery, jako jsou GFAP nebo myelinové proteiny, což potvrzuje jejich neuronovou identitu.

Funkčně buňky GT1-7 exprimují endogenní mRNA GnRH a vylučují GnRH v epizodickém vzoru. Disponují kompletním zpracovacím mechanismem pro přeměnu pro-GnRH na zralý, bioaktivní GnRH, včetně potřebných endopeptidáz, karboxypeptidáz a amidujících enzymů. Tyto buňky také vylučují peptid asociovaný s GnRH (GAP), vedlejší produkt zpracování pro-GnRH. Biochemická charakterizace odhalila více molekulárních forem jak pro-GnRH, tak zralého GnRH v buňkách GT1-7 a v kultivačním médiu, což naznačuje aktivní posttranslační zpracování. GnRH sekretovaný GT1-7 je biologicky aktivní a je schopen stimulovat uvolňování LH z buněk předního hypofýzy in vitro.

Buňky GT1-7 vykazují in vitro nízkou migrační aktivitu, na rozdíl od jiných buněčných linií GnRH, jako je GN11, které pocházejí z vývojově nezralých, migračních neuronů GnRH. Buňky GT1-7 jsou považovány za reprezentativní pro postmigrační hypotalamické GnRH neurony a v kultuře tvoří těsně propojené kolonie spojené neurity. Jejich nedostatečná pohyblivost, spojená se zralými neuronálními vlastnostmi a citlivostí na regulační faktory, z nich činí výkonný model pro studium genové regulace, kontroly vývoje a sekreční fyziologie hypotalamických GnRH neuronů.

Organism Myš**Tissue** Mozek, hypotalamus**Charakteristika****Cell type** GnRH neuron**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** GT1-7 (katalogové číslo Cytion 305779)**Biosafety level** 1

Buňky GT1-7 | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Tato neuronová linie GT1-7 obsahuje transgen SV40 velkého T-antigenu pod kontrolou promotoru GnRH pro studie sekrece GnRH. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Mutational profile

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky GT1-7 | 305779**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Buňky GT1-7 | 305779

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.