

## GT1-7-Zellen | 305779

## Allgemeine Informationen

## Description

GT1-7 ist eine klonale Sublinie von immortalisierten hypothalamischen Neuronen der Maus, die Gonadotropin-freisetzendes Hormon (GnRH), auch bekannt als Luteinisierendes Hormon-freisetzendes Hormon (LHRH), synthetisieren und sekretieren. Diese Zellen wurden durch genetisch gezielte Tumorentstehung unter Verwendung eines transgenen Mausmodells entwickelt, in dem das SV40-Large-T-Antigen unter der Kontrolle des GnRH-Genpromotors exprimiert wurde. Diese Strategie führte zu Hypothalamustumoren, aus denen mehrere GnRH-sekretierende Zelllinien abgeleitet wurden, darunter GT1-1, GT1-3 und GT1-7. GT1-7-Zellen weisen einen differenzierten neuronalen Phänotyp auf, einschließlich der Expression von neuronenspezifischen Markern wie Neurofilamentproteinen, neuronenspezifischer Enolase, synaptischen vesikelassoziierten Proteinen (VAMP-2, SNAP-25) und Chromogranin B. Sie exprimieren keine Gliazellenmarker wie GFAP oder Myelinproteine, was ihre neuronale Identität bestätigt.

Funktionell exprimieren GT1-7-Zellen endogenes GnRH-mRNA und sezernieren GnRH in einem episodischen Muster. Sie verfügen über den vollständigen Verarbeitungsmechanismus, um Pro-GnRH in reifes, bioaktives GnRH umzuwandeln, einschließlich der erforderlichen Endopeptidasen, Carboxypeptidasen und Amidierungsenzyme. Diese Zellen sezernieren auch GnRH-assoziiertes Peptid (GAP), ein Nebenprodukt der Pro-GnRH-Verarbeitung. Die biochemische Charakterisierung hat mehrere molekulare Formen sowohl von Pro-GnRH als auch von reifem GnRH in GT1-7-Zellen und im Kulturmedium aufgezeigt, was auf eine aktive posttranslationale Verarbeitung hindeutet. Das von GT1-7 sekretierte GnRH ist biologisch aktiv und in der Lage, die LH-Freisetzung aus Zellen der vorderen Hypophyse *in vitro* zu stimulieren.

GT1-7-Zellen zeigen *in vitro* eine geringe Migrationsaktivität, im Gegensatz zu anderen GnRH-Zelllinien wie GN11, die aus entwicklungsunreifen, migrierenden GnRH-Neuronen stammen. GT1-7-Zellen gelten als repräsentativ für postmigratorische hypothalamische GnRH-Neuronen und bilden in Kultur eng verbundene, durch Neuriten verbundene Kolonien. Ihre mangelnde Motilität in Verbindung mit reifen neuronalen Eigenschaften und ihrer Reaktionsfähigkeit auf regulatorische Faktoren macht sie zu einem leistungsfähigen Modell für die Untersuchung der Genregulation, der Entwicklungskontrolle und der sekretorischen Physiologie hypothalamischer GnRH-Neuronen.

**Organism** Maus

**Tissue** Gehirn, Hypothalamus

## Merkmale

**Cell type** GnRH-Neuron

**Growth properties** Adhärent

## Regulatorische Daten

**Citation** GT1-7 (Cytion-Katalognummer 305779)

**GT1-7-Zellen | 305779**

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_0281

**GMO Status** GMO-S1: Diese neuronale Linie GT1-7 enthält ein SV40-Large-T-Antigen-Transgen unter der Kontrolle des GnRH-Promotors für GnRH-Sekretionsstudien. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

**Biomolekulare Daten**

**Mutational profile**

**Handhabung**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

**GT1-7-Zellen | 305779**

**Thawing and Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, befeuchtete Atmosphäre.

**Flask Coating**

None

**Shipping Conditions**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**Storage Conditions**

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### **Sterility**

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.