

## GT1-7-solut | 305779

## Yleisiä tietoja

## Description

GT1-7 on kloonattu alalinja kuolemattomista hiiren hypotalamuksen neuroneista, jotka syntetisoivat ja erittävät gonadotropiinia vapauttavaa hormonia (GnRH), joka tunnetaan myös nimellä luteinisoiva hormoni vapauttava hormoni (LHRH). Nämä solut kehitettiin geneettisesti kohdennetulla tuumorigenesialla käyttäen transgeenistä hiirimallia, jossa SV40-suuri T-antigeeni ilmentyi GnRH-geenin promoottorin ohjauksessa. Tämä strategia johti hypotalamuksen kasvaimiin, joista johdettiin useita GnRH:ta erittäviä solulinjoja, mukaan lukien GT1-1, GT1-3 ja GT1-7. GT1-7-solut osoittavat erilaistunutta hermosolujen fenotyyppiä, mukaan lukien hermosolujen spesifisten merkkiaineiden, kuten neurofilamenttiproteiinien, hermosolujen spesifisen enolaasin, synaptisten vesikkelien assosioituneiden proteiinien (VAMP-2, SNAP-25) ja kromogranini B:n ilmentymisen. Ne eivät ilmentä glia-merkkiaineita, kuten GFAP:tä tai myeliiniproteiineja, mikä vahvistaa niiden hermosolujen identiteetin.

Toiminnallisesti GT1-7-solut ilmentävät endogeenistä GnRH-mRNA:ta ja erittävät GnRH:ta episodisessa mallissa. Niillä on täydellinen prosessointikoneisto pro-GnRH:n muuntamiseksi kypsäksi, bioaktiiviseksi GnRH:ksi, mukaan lukien tarvittavat endopeptidaasit, karboksipeptidaasit ja amidointienzyymit. Nämä solut erittävät myös GnRH-assosioitunutta peptidiä (GAP), joka on pro-GnRH-prosessoinnin sivutuote. Biokemiallinen karakterisointi on paljastanut useita molekyyliumuotoja sekä pro-GnRH:sta että kypsästä GnRH:sta GT1-7-soluissa ja viljelyväliaineessa, mikä viittaa aktiiviseen translaation jälkeiseen prosessointiin. GT1-7:n erittämä GnRH on biologisesti aktiivista ja kykenee stimuloimaan LH:n vapautumista aivolisäkkeen etuosassa in vitro.

GT1-7-solut osoittavat in vitro vähäistä migraatio toimintaa, toisin kuin muut GnRH-solulinjat, kuten GN11, jotka ovat peräisin kehitykseltään epäkypsemmistä, migraatiokykyisistä GnRH-neuroneista. GT1-7-soluja pidetään tyypillisinä hypotalamuksen GnRH-neuronien siirtymävaiheen jälkeisinä soluna, ja ne muodostavat viljelmässä tiiviisti toisiinsa kytkeytyneitä, neuriteihin liittyviä pesäkkeitä. Niiden liikkuvuuden puute yhdistettynä kypsiin neuronien ominaisuuksiin ja reagoitakykyyn säätelytekijöihin tekee niistä tehokkaan mallin hypotalamuksen GnRH-neuronien geenisäätelyn, kehityksen ohjauksen ja eritysfysiologian tutkimiseen.

**Organism** Hiiri

**Tissue** Aivot, hypotalamus

## Ominaisuudet

**Cell type** GnRH-neuroni

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

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

**Biosafety level** 1

## GT1-7-solut | 305779

**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0281**GMO Status** GMO-S1: Tämä GT1-7-hermosolulinja sisältää SV40-suuren T-antigeenin transgeenin GnRH-promoottorin ohjauksessa GnRH-erityksen tutkimuksia varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyyli tiedot****Mutational profile****Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## GT1-7-solut | 305779

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

None

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**

**GT1-7-solut | 305779**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.