

Cellules GT1-7 | 305779

Informations générales

Description

GT1-7 est une sous-lignée clonale de neurones hypothalamiques immortalisés de souris qui synthétisent et sécrètent l'hormone de libération des gonadotrophines (GnRH), également connue sous le nom d'hormone de libération de la lutéinostimuline (LHRH). Ces cellules ont été développées par tumorigénèse génétiquement ciblée à l'aide d'un modèle de souris transgénique dans lequel le grand antigène T du SV40 était exprimé sous le contrôle du promoteur du gène GnRH. Cette stratégie a donné lieu à des tumeurs hypothalamiques à partir desquelles plusieurs lignées cellulaires sécrétant de la GnRH ont été dérivées, notamment GT1-1, GT1-3 et GT1-7. Les cellules GT1-7 présentent un phénotype neuronal différencié, notamment l'expression de marqueurs spécifiques des neurones tels que les protéines neurofilamentaires, l'énolase spécifique des neurones, les protéines associées aux vésicules synaptiques (VAMP-2, SNAP-25) et la chromogranine B. Elles n'expriment pas de marqueurs gliaux tels que la GFAP ou les protéines de la myéline, ce qui confirme leur identité neuronale.

Sur le plan fonctionnel, les cellules GT1-7 expriment l'ARNm endogène de la GnRH et sécrètent la GnRH de manière épisodique. Elles possèdent tout le mécanisme de traitement nécessaire pour convertir la pro-GnRH en GnRH mature et bioactive, y compris les endopeptidases, les carboxypeptidases et les enzymes d'amidation requises. Ces cellules sécrètent également le peptide associé à la GnRH (GAP), un sous-produit du traitement de la pro-GnRH. La caractérisation biochimique a révélé de multiples formes moléculaires de pro-GnRH et de GnRH mature dans les cellules GT1-7 et dans le milieu de culture, indiquant un traitement post-traductionnel actif. La GnRH sécrétée par GT1-7 est biologiquement active, capable de stimuler la libération de LH par les cellules hypophysaires antérieures in vitro.

Les cellules GT1-7 présentent une faible activité migratoire in vitro, contrairement à d'autres lignées cellulaires GnRH telles que GN11, qui sont dérivées de neurones GnRH migratoires plus immatures sur le plan développemental. Les cellules GT1-7 sont considérées comme représentatives des neurones GnRH hypothalamiques post-migratoires et forment des colonies étroitement connectées, liées par des neurites, en culture. Leur manque de motilité, associé à des traits neuronaux matures et à une réactivité aux facteurs régulateurs, en fait un modèle puissant pour l'étude de la régulation génétique, du contrôle du développement et de la physiologie sécrétoire des neurones GnRH hypothalamiques.

Organism Souris

Tissue Cerveau, hypothalamus

Caractéristiques

Cell type neurone GnRH

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation GT1-7 (référence Cytion 305779)

Cellules GT1-7 | 305779

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1 : cette lignée neuronale GT1-7 contient un transgène de l'antigène T grand SV40 sous le contrôle du promoteur GnRH pour les études sur la sécrétion de GnRH. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.**Données biomoléculaires****Mutational profile****Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules GT1-7 | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules GT1-7 | 305779

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.