

Cellule GT1-7 | 305779**Informazioni generali****Description**

GT1-7 è una sottolinia clonale di neuroni ipotalamici immortalizzati di topo che sintetizzano e secernono l'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), noto anche come ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante (LHRH). Queste cellule sono state sviluppate attraverso la tumorigenesi geneticamente mirata utilizzando un modello murino transgenico in cui l'antigene T grande SV40 era espresso sotto il controllo del promotore del gene GnRH. Questa strategia ha portato alla formazione di tumori ipotalamici da cui sono state derivate diverse linee cellulari secernenti GnRH, tra cui GT1-1, GT1-3 e GT1-7. Le cellule GT1-7 mostrano un fenotipo neuronale differenziato, compresa l'espressione di marcatori specifici dei neuroni come le proteine neurofilamentali, l'enolasi specifica dei neuroni, le proteine associate alle vescicole sinaptiche (VAMP-2, SNAP-25) e la cromogranina B. Non esprimono marcatori gliali come GFAP o proteine della mielina, confermando la loro identità neuronale.

Dal punto di vista funzionale, le cellule GT1-7 esprimono mRNA GnRH endogeno e secernono GnRH in modo episodico. Possiedono l'intero meccanismo di elaborazione necessario per convertire il pro-GnRH in GnRH maturo e bioattivo, comprese le endopeptidasi, le carbossipeptidasi e gli enzimi amidanti richiesti. Queste cellule secernono anche il peptide associato al GnRH (GAP), un sottoprodotto dell'elaborazione del pro-GnRH. La caratterizzazione biochimica ha rivelato molteplici forme molecolari sia di pro-GnRH che di GnRH maturo all'interno delle cellule GT1-7 e nel terreno di coltura, indicando un'elaborazione post-traduzionale attiva. Il GnRH secreto da GT1-7 è biologicamente attivo, in grado di stimolare il rilascio di LH dalle cellule dell'ipofisi anteriore in vitro.

Le cellule GT1-7 mostrano una bassa attività migratoria in vitro, in contrasto con altre linee cellulari GnRH come GN11, che derivano da neuroni GnRH migratori più immaturi dal punto di vista dello sviluppo. Le cellule GT1-7 sono considerate rappresentative dei neuroni GnRH ipotalamici post-migratori e formano colonie strettamente connesse e collegate da neuriti in coltura. La loro mancanza di motilità, unita alle caratteristiche neuronali mature e alla reattività ai fattori regolatori, le rende un potente modello per lo studio della regolazione genica, del controllo dello sviluppo e della fisiologia secretoria dei neuroni GnRH ipotalamici.

Organism Mouse**Tissue** Cervello, ipotalamo**Caratteristiche****Cell type** Neurone GnRH**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** GT1-7 (numero di catalogo Cytion 305779)

Cellule GT1-7 | 305779

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: questa linea neuronale GT1-7 contiene un transgene dell'antigene T grande SV40 sotto il controllo del promotore GnRH per studi sulla secrezione di GnRH. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Mutational profile****Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule GT1-7 | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Cellule GT1-7 | 305779

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.