

Komórki GT1-7 | 305779**Informacje ogólne****Description**

GT1-7 to klonalna podlinia nieśmiertelnych neuronów podwzgórza myszy, które syntetyzują i wydzielają hormon uwalniający gonadotropinę (GnRH), znany również jako hormon uwalniający hormon luteinizujący (LHRH). Komórki te zostały opracowane poprzez genetycznie ukierunkowaną tumorigenezę z wykorzystaniem transgenicznych modeli myszy, w których duży antygen T SV40 był wyrażany pod kontrolą promotora genu GnRH. Strategia ta doprowadziła do powstania guzów podwzgórza, z których wyhodowano kilka linii komórkowych wydzielających GnRH, w tym GT1-1, GT1-3 i GT1-7. Komórki GT1-7 wykazują zróżnicowany fenotyp neuronalny, w tym ekspresję markerów specyficznych dla neuronów, takich jak białka neurofilamentowe, enolaza specyficzna dla neuronów, białka związane z pęcherzykami synaptycznymi (VAMP-2, SNAP-25) i chromogranina B. Nie wykazują one ekspresji markerów gleju, takich jak GFAP lub białka mielinowe, co potwierdza ich tożsamość neuronalną.

Pod względem funkcjonalnym komórki GT1-7 wykazują ekspresję endogennego mRNA GnRH i wydzielają GnRH w sposób epizodyczny. Posiadają one pełen mechanizm przetwarzania pro-GnRH do dojrzałego, bioaktywnego GnRH, w tym niezbędne endopeptydazy, karboksypeptydazy i enzymy amidujące. Komórki te wydzielają również peptyd związany z GnRH (GAP), produkt uboczny przetwarzania pro-GnRH. Charakterystyka biochemiczna ujawniła wiele form molekularnych zarówno pro-GnRH, jak i dojrzałego GnRH w komórkach GT1-7 i w pożywce hodowlanej, co wskazuje na aktywne przetwarzanie potranslacyjne. GnRH wydzielane przez GT1-7 jest biologicznie aktywne i zdolne do stymulowania uwalniania LH z komórek przedniego płata przysadki mózgowej in vitro.

Komórki GT1-7 wykazują niską aktywność migracyjną in vitro, w przeciwieństwie do innych linii komórkowych GnRH, takich jak GN11, które pochodzą z bardziej niedojrzałych rozwojowo, migrujących neuronów GnRH. Komórki GT1-7 są uważane za reprezentatywne dla postmigracyjnych neuronów GnRH podwzgórza i tworzą w hodowli ściśle połączone kolonie połączone neurytami. Ich brak ruchliwości w połączeniu z dojrzałymi cechami neuronowymi i reaktywnością na czynniki regulacyjne sprawia, że są one potężnym modelem do badania regulacji genów, kontroli rozwoju i fizjologii wydzielania neuronów GnRH podwzgórza.

Organism Mysz**Tissue** Mózg, podwzgórze**Charakterystyka****Cell type** Neuron GnRH**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** GT1-7 (numer katalogowy Cytion 305779)

Komórki GT1-7 | 305779**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Ta linia neuronowa GT1-7 zawiera transgen dużego antygeny T wirusa SV40 pod kontrolą promotora GnRH do badań nad wydzielaniem GnRH. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Mutational profile****Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

None

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki GT1-7 | 305779

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.