

Células GT1-7 | 305779**Informações gerais****Description**

GT1-7 é uma sublinha clonal de neurónios hipotalâmicos imortalizados de ratos que sintetizam e secretam a hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH), também conhecida como hormona libertadora de hormona luteinizante (LHRH). Estas células foram desenvolvidas através de tumorigénese geneticamente direcionada utilizando um modelo de rato transgénico no qual o antígeno T grande SV40 foi expresso sob o controlo do promotor do gene GnRH. Essa estratégia resultou em tumores hipotalâmicos dos quais várias linhas celulares secretoras de GnRH foram derivadas, incluindo GT1-1, GT1-3 e GT1-7. As células GT1-7 apresentam um fenótipo neuronal diferenciado, incluindo a expressão de marcadores específicos de neurónios, tais como proteínas neurofilamentares, enolase específica de neurónios, proteínas associadas a vesículas sinápticas (VAMP-2, SNAP-25) e cromogranina B. Não expressam marcadores gliais, tais como GFAP ou proteínas da mielina, confirmando a sua identidade neuronal.

Funcionalmente, as células GT1-7 expressam mRNA GnRH endógeno e secretam GnRH num padrão episódico. Possuem todo o mecanismo de processamento necessário para converter pro-GnRH em GnRH maduro e bioativo, incluindo as endopeptidases, carboxipeptidases e enzimas de amidificação necessárias. Estas células também secretam o péptido associado ao GnRH (GAP), um subproduto do processamento do pro-GnRH. A caracterização bioquímica revelou múltiplas formas moleculares tanto de pro-GnRH como de GnRH maduro dentro das células GT1-7 e no meio de cultura, indicando um processamento pós-traducional ativo. O GnRH secretado pelas GT1-7 é biologicamente ativo, capaz de estimular a libertação de LH das células hipofisárias anteriores in vitro.

As células GT1-7 exibem baixa atividade migratória in vitro, contrastando com outras linhas celulares de GnRH, como GN11, que são derivadas de neurónios GnRH migratórios mais imaturos em termos de desenvolvimento. As células GT1-7 são consideradas representativas dos neurónios GnRH hipotalâmicos pós-migratórios e formam colónias fortemente conectadas e ligadas por neuritos em cultura. A sua falta de motilidade, juntamente com características neuronais maduras e capacidade de resposta a fatores reguladores, torna-as um modelo poderoso para o estudo da regulação genética, controlo do desenvolvimento e fisiologia secretora dos neurónios GnRH hipotalâmicos.

Organism Rato**Tissue** Cérebro, hipotálamo**Caraterísticas****Cell type** Neurónio GnRH**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** GT1-7 (número de catálogo Cytion 305779)

Células GT1-7 | 305779**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Esta linha neuronal GT1-7 contém um transgênico do antígeno T grande SV40 sob o controle do promotor GnRH para estudos de secreção de GnRH. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Mutational profile****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células GT1-7 | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células GT1-7 | 305779

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.