

Celule GT1-7 | 305779

Informații generale

Description

GT1-7 este o sublinie clonală de neuroni hipotalamici imortalizați de șoarece care sintetizează și secretă hormonul de eliberare a gonadotropinei (GnRH), cunoscut și sub denumirea de hormon de eliberare a hormonului luteinizant (LHRH). Aceste celule au fost dezvoltate prin tumorigeneză țintită genetic, utilizând un model de șoarece transgen, în care antigenul T mare SV40 a fost exprimat sub controlul promotorului genei GnRH. Această strategie a dus la apariția tumorilor hipotalamice din care au fost derivate mai multe linii celulare secretatoare de GnRH, inclusiv GT1-1, GT1-3 și GT1-7. Celulele GT1-7 prezintă un fenotip neuronal diferențiat, inclusiv expresia markerilor specifici neuronilor, cum ar fi proteinele neurofilamentare, enolaza specifică neuronilor, proteinele asociate veziculelor sinaptice (VAMP-2, SNAP-25) și cromogranina B. Acestea nu exprimă markeri gliali, cum ar fi GFAP sau proteinele mielinice, confirmând identitatea lor neuronală.

Din punct de vedere funcțional, celulele GT1-7 exprimă ARNm GnRH endogen și secretă GnRH într-un model episodic. Acestea posedă mecanismul complet de procesare pentru a converti pro-GnRH în GnRH matur, bioactiv, inclusiv endopeptidazele, carboxipeptidazele și enzimele de amidare necesare. Aceste celule secretă, de asemenea, peptida asociată GnRH (GAP), un produs secundar al procesării pro-GnRH. Caracterizarea biochimică a revelat multiple forme moleculare atât ale pro-GnRH, cât și ale GnRH matur în celulele GT1-7 și în mediul de cultură, indicând o procesare post-tranlațională activă. GnRH secretat de GT1-7 este biologic activ, capabil să stimuleze eliberarea de LH din celulele hipofizei anterioare in vitro.

Celulele GT1-7 prezintă o activitate migratorie scăzută in vitro, în contrast cu alte linii celulare GnRH, cum ar fi GN11, care sunt derivate din neuroni GnRH migratori, mai imaturi din punct de vedere al dezvoltării. Celulele GT1-7 sunt considerate reprezentative pentru neuronii GnRH hipotalamici post-migratorii și formează colonii strâns conectate, legate de neurite, în cultură. Lipsa lor de motilitate, combinată cu trăsături neuronale mature și receptivitate la factorii de reglare, le face un model puternic pentru studierea reglării genelor, controlului dezvoltării și fiziologiei secretorii a neuronilor GnRH hipotalamici.

Organism Șoarece

Tissue Creier, hipotalamus

Caracteristici

Cell type Neuron GnRH

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation GT1-7 (număr de catalog Cytion 305779)

Biosafety level 1

Celule GT1-7 | 305779

NCBI_TaxID 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Această linie neuronală GT1-7 conține un transgene SV40 mare antigen T sub controlul promotorului GnRH pentru studiile privind secreția GnRH. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Mutational profile

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule GT1-7 | 305779

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Celule GT1-7 | 305779

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.