

Клітини GT1-7 | 305779

Загальна інформація

Description

GT1-7 — це клонована сублінія безсмертних нейронів гіпоталамуса мишей, які синтезують і секретують гонадотропін-рилізінг-гормон (GnRH), також відомий як лютеїнізуючий гормон-рилізінг-гормон (LHRH). Ці клітини були розроблені шляхом генетично спрямованої пухлиноутворення з використанням трансгенної мишачої моделі, в якій великий Т-антиген SV40 експресувався під контролем промотора гена GnRH. Ця стратегія призвела до утворення гіпоталамічних пухлин, з яких було отримано кілька клітинних ліній, що секретують GnRH, включаючи GT1-1, GT1-3 та GT1-7. Клітини GT1-7 демонструють диференційований нейрональний фенотип, включаючи експресію нейроспецифічних маркерів, таких як нейрофіламентні білки, нейроспецифічна енолаза, білки, пов'язані з синаптичними везикулами (VAMP-2, SNAP-25), та хромогранін В. Вони не експресують гліальних маркерів, таких як GFAP або мієлінові білки, що підтверджує їх нейрональну ідентичність.

Функціонально клітини GT1-7 експресують ендогенну мРНК GnRH і секретують GnRH в епізодичному режимі. Вони володіють повним механізмом перетворення про-GnRH в зрілий, біоактивний GnRH, включаючи необхідні ендопептидази, карбоксипептидази та амідирувальні ферменти. Ці клітини також секретують пептид, асоційований з GnRH (GAP), побічний продукт перетворення про-GnRH. Біохімічна характеристика виявила множинні молекулярні форми як про-GnRH, так і зрілого GnRH в клітинах GT1-7 і в культуральному середовищі, що вказує на активну посттрансляційну обробку. GnRH, що секретується GT1-7, є біологічно активним і здатним стимулювати вивільнення ЛГ з клітин передньої частки гіпофіза *in vitro*.

Клітини GT1-7 виявляють низьку міграційну активність *in vitro*, на відміну від інших клітинних ліній GnRH, таких як GN11, які походять від більш незрілих у розвитку міграційних нейронів GnRH. Клітини GT1-7 вважаються репрезентативними для постміграційних гіпоталамічних GnRH-нейронів і утворюють тісно пов'язані, пов'язані нейритами колонії в культурі. Їх відсутність рухливості, поєднана зі зрілими нейрональними рисами та чутливістю до регуляторних факторів, робить їх потужною моделлю для вивчення регуляції генів, контролю розвитку та секреторної фізіології гіпоталамічних GnRH-нейронів.

Organism Миша

Tissue Мозок, гіпоталамус

Характеристики

Cell type Нейрон ГнРГ

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation GT1-7 (номер у каталозі Cytion 305779)

Клітини GT1-7 | 305779

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0281**GMO Status** GMO-S1: Ця нейрональна лінія GT1-7 містить трансген великого Т-антигену SV40 під контролем промотора GnRH для досліджень секреції GnRH. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Mutational profile

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини GT1-7 | 305779

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

None

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини GT1-7 | 305779

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °С. Зберігання при -80 °С допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.