

Buňky GIST-T1 | 305777**Obecné informace****Description**

Buněčná linie GIST-T1 je osvědčený model lidského gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST), který byl odvozen z metastatického ložiska v pohrudnici, které vzniklo jako následek primárního GIST žaludku u dospělé japonské ženy. Imunohistochemické analýzy potvrdily silnou pozitivitu na c-KIT (CD117) a CD34, dva charakteristické markery GIST, zatímco linie byla negativní na desmin, S-100 a α -aktin hladkého svalstva, což potvrdilo její nesvalový a ne-nervový původ. Cytogenetické studie odhalily hypodiploidní karyotyp s komplexními chromozomálními abnormalitami, včetně prstencového chromozomu a několika nevyvážených translokací. Analýzy komparativní genomové hybridizace (CGH) a FISH ukázaly amplifikace na vysokém stupni v oblastech 3q26.1–27, 5p12–15.1 a 7q21.3–36, které jsou často spojovány s amplifikací onkogenů u GIST.

GIST-T1 nese klinicky relevantní 57-nukleotidovou in-frame delecí v exonu 11 genu *KIT* (V570-Y578), jednu z nejčastějších mutací u pacientů s GIST a kritický cíl inhibitorů tyrozinkinázy, jako je imatinib. Díky tomu se GIST-T1 stal nezbytným modelem pro studium onkogeneze řízené KIT a terapeutické odpovědi. Při dlouhodobé kultivaci vykazují buňky GIST-T1 stabilní proliferaci a zachovávají si citlivost na imatinib, pokud nejsou specificky selektovány na rezistenci. Pro výzkumné účely byly vytvořeny odvozené rezistentní sublinie GIST-T1, které vykazují sekundární mutace KIT (např. D820V nebo D820Y), což umožňuje studium mechanismů rezistence a adaptivních transkripčních změn. Tyto rezistentní modely vykazují změny v genech souvisejících s detoxikací, regulací buněčného cyklu a obcházením apoptózy.

GIST-T1 také přispěl k objevu nových onkogenních faktorů v GIST, včetně fúzních genů, jako je EXOC2-AK7, identifikovaných v subliniích rezistentních na imatinib. Funkční studie prokázaly, že tyto fúzní geny zvyšují proliferaci a migrační schopnosti buněk GIST a zvyšují jejich citlivost na imatinib, což ukazuje na nové terapeutické možnosti. Přítomnost super-enhancerů asociovaných s GIST a sítí transkripčních faktorů (např. HAND1 v metastatickém progresi) dále posiluje užitečnost modelu při dešifrování epigenetické a transkripční architektury GIST. Celkově GIST-T1 poskytuje robustní, geneticky a fenotypově validovaný systém pro studium biologie, reakce na léky a mechanismů rezistence gastrointestinálních stromálních nádorů.

Organism	Člověk
Tissue	Metastatické
Disease	Gastrointestinální stromální nádor
Metastatic site	Pleurální výpotek
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Charakteristika

Age	47 let
Gender	Ženy

Buňky GIST-T1 | 305777**Ethnicity** Japonský**Cell type** Cajalova intersticiální buňka**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** GIST-T1 (katalogové číslo Cytion 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976**Biomolekulární data****Mutational profile** Mutace: KIT, jednoduchá, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozygotní**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 hodin**Seeding density** 1 až 4×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky GIST-T1 | 305777

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky GIST-T1 | 305777

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.