

Κύτταρα GIST-T1 | 305777

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά GIST-T1 αποτελεί ένα καθιερωμένο μοντέλο ανθρώπινου γαστρεντερικού στρωματικού όγκου (GIST) που προέρχεται από μεταστατική πνευμονική βλάβη δευτερογενή σε πρωτοπαθή γαστρικό GIST σε ενήλικη Ιαπωνίδα. Οι ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις επιβεβαίωσαν ισχυρή θετικότητα για c-KIT (CD117) και CD34, δύο χαρακτηριστικούς δείκτες του GIST, ενώ η σειρά ήταν αρνητική για δεσμίνη, S-100 και α-ακτίνη λείου μυός, επιβεβαιώνοντας τη μη μυϊκή και μη νευρική προέλευσή της. Κυτταρογενετικές μελέτες αποκάλυψαν έναν υποδιπλασιδής καρύοτυπο με σύνθετες χρωμοσωμικές ανωμαλίες, συμπεριλαμβανομένου ενός δακτυλιοειδούς χρωμοσώματος και αρκετών μη ισορροπημένων μετατοπίσεων. Οι αναλύσεις συγκριτικής γονιδιωματικής υβριδοποίησης (CGH) και FISH έδειξαν ενισχύσεις υψηλού επιπέδου στις περιοχές 3q26.1-27, 5p12-15.1 και 7q21.3-36, οι οποίες συχνά συνδέονται με ενίσχυση ογκογονιδίων στο GIST.

Το GIST-T1 φέρει μια κλινικά σημαντική διαγραφή 57 νουκλεοτιδίων εντός πλαισίου στο εξόνιο 11 του γονιδίου *KIT* (V570-Y578), μία από τις πιο συχνές μεταλλάξεις σε ασθενείς με GIST και κρίσιμο στόχο αναστολέων της τυροσινικής κινάσης όπως το ιματινίμπη. Αυτό έχει καταστήσει το GIST-T1 ένα ουσιαστικό μοντέλο για τη μελέτη της ογκογένεσης που προκαλείται από το KIT και της θεραπευτικής απόκρισης. Σε μακροχρόνια καλλιέργεια, τα κύτταρα GIST-T1 παρουσιάζουν σταθερό πολλαπλασιασμό και διατηρούν την ευαισθησία στο ιματινίμπη, εκτός εάν επιλεγούν ειδικά για ανθεκτικότητα. Παράγωγες ανθεκτικές υποσειρές του GIST-T1 έχουν δημιουργηθεί για ερευνητικούς σκοπούς και παρουσιάζουν δευτερογενείς μεταλλάξεις του KIT (π.χ. D820V ή D820Y), επιτρέποντας τη μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας και των προσαρμοστικών μεταγραφικών αλλαγών. Αυτά τα ανθεκτικά μοντέλα παρουσιάζουν μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με την αποτοξίνωση, τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την αποφυγή της απόπτωσης.

Το GIST-T1 έχει επίσης συμβάλει στην ανακάλυψη νέων ογκογονικών παραγόντων στο GIST, συμπεριλαμβανομένων γονιδίων σύντηξης όπως το EXOC2-AK7, που ταυτοποιήθηκαν σε υπογραμμές ανθεκτικές στο ιματινίμπη. Λειτουργικές μελέτες κατέδειξαν ότι αυτά τα γονίδια σύντηξης ενισχύουν τις ικανότητες πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης των κυττάρων GIST και τα ευαισθητοποιούν στο ιματινίμπη, υποδεικνύοντας νέες θεραπευτικές οδούς. Η παρουσία υπερενισχυτών που σχετίζονται με το GIST και δικτύων μεταγραφικών παραγόντων (π.χ. HAND1 στην εξέλιξη της μετάστασης) ενισχύει περαιτέρω τη χρησιμότητα του μοντέλου στην αποκρυπτογράφηση της επιγενετικής και μεταγραφικής αρχιτεκτονικής του GIST. Συνολικά, το GIST-T1 παρέχει ένα ισχυρό, γενετικά και φαινοτυπικά επικυρωμένο σύστημα για τη μελέτη της βιολογίας, της ανταπόκρισης στα φάρμακα και των μηχανισμών αντοχής των γασ

Organism Ανθρώπινο

Tissue Μεταστατικό

Disease Γαστρεντερικός στρωματικός όγκος

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

Synonyms GIST-T-1, GISTT1, T1

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα GIST-T1 | 305777

Age	47 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ιαπωνικά
Cell type	Διάμεσο κύτταρο του Cajal
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	GIST-T1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305777)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4976

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Μεταλλαγή: KIT, απλή, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), ετερόζυγη
---------------------------	--

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 ώρες
Seeding density	1 έως 4×10^4 κύτταρα/cm ²

Κύτταρα GIST-T1 | 305777**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Κύτταρα GIST-T1 | 305777

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.