

GIST-T1 rakud | 305777

Üldine teave

Description

GIST-T1 rakuliin on hästi tunnustatud inimese seedetrakti stromaalse kasvaja (GIST) mudel, mis on saadud täiskasvanud jaapani naise esmase mao-GIST-i tagajärjel tekkinud metastaatilise pleura-leesiooni põhjal. Immunohistokeemilised analüüsid kinnitasid tugevat positiivsust c-KIT-i (CD117) ja CD34 suhtes, mis on kaks GIST-i iseloomulikke markerit, samas kui liin oli negatiivne desmiini, S-100 ja α -silelihasaktini suhtes, mis kinnitas selle mitteliigese- ja mitte-närvipäritolu. Tsütogeneetilised uuringud näitasid hüpodiploidset kariotüüpi koos keeruliste kromosoomianomaaliatega, sealhulgas ringkromosoomi ja mitme tasakaalustamata translokatsiooniga. Võrdlev genoomne hübriidsatsioon (CGH) ja FISH-analüüsid näitasid kõrget amplifikatsiooni taset piirkondades 3q26.1–27, 5p12–15.1 ja 7q21.3–36, mis on sageli seotud onkogeeni amplifikatsiooniga GIST-is.

GIST-T1 sisaldab kliiniliselt olulist 57-nukleotiidilist in-frame-deleetsiooni *KIT*-geeni eksonis 11 (V570-Y578), mis on üks levinumaid mutatsioone GIST-patsientidel ja türosiinkinaasi inhibiitorite, nagu imatinibi, kriitiline sihtmärk. See on teinud GIST-T1-st olulise mudeli KIT-põhise onkogeneesi ja ravivastuse uurimiseks. Pikaajalises kultuuris näitavad GIST-T1 rakud stabiilset proliferatsiooni ja säilitavad tundlikkuse imatinibi suhtes, kui neid ei ole spetsiaalselt resistentsuse suhtes selekteeritud. Teadusuuringute eesmärgil on loodud GIST-T1 resistentsed derivaadid, millel esinevad sekundaarseid KIT-mutatsioone (nt D820V või D820Y), võimaldades uurida resistentsusmehhanisme ja adaptiivseid transkriptsioonilisi muutusi. Nendel resistentsedel mudelitel esinevad muutused geenides, mis on seotud detoksikatsiooni, rakutsükli regulatsiooni ja apoptoosi vältimisega.

GIST-T1 on aidanud kaasa ka uute onkogeensete tegurite avastamisele GIST-is, sealhulgas fusioonigenid nagu EXOC2-AK7, mis on identifitseeritud imatinib-resistentses alamliinides. Funktsionaalsed uuringud on näidanud, et need fusioonigenid suurendavad GIST-rakkude proliferatsiooni- ja rändevõimet ning muudavad need imatinibi suhtes tundlikumaks, osutades uutele ravivõimalustele. GIST-iga seotud super-enhancerite ja transkriptsioonifaktorite võrgustike (nt HAND1 metastaatilise progressiooni korral) olemasolu tugevdab veelgi mudeli kasulikkust GIST-i epigeneetilise ja transkriptsioonilise struktuuri lahtimõtestamisel. Kokkuvõttes pakub GIST-T1 tugevat, geneetiliselt ja fenotüübiliselt valideeritud süsteemi seedetrakti stromaalse kasvaja bioloogia, ravimireaktsiooni ja resistentsusmehhanismide uurimiseks.

Organism	Inimene
Tissue	Metastaatiline
Disease	Seedeelundkonna stromaalne kasvaja
Metastatic site	Pleuraefusioon
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Omadused

Age	47 aastat
Gender	Naised

GIST-T1 rakud | 305777

Ethnicity Jaapani**Cell type** Cajali interstiaalarakk**Growth properties** Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation GIST-T1 (Cytioni katalooginumber 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: KIT, lihtne, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 tundi**Seeding density** $1-4 \times 10^4$ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

GIST-T1 rakud | 305777

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernetant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150°C kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

GIST-T1 rakud | 305777

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.