

## GIST-T1-solut | 305777

## Yleisiä tietoja

## Description

GIST-T1-solulinja on vakiintunut ihmisen ruoansulatuskanavan stromasolukasvaimen (GIST) malli, joka on peräisin aikuisten japanilaisen naisen primaarisen mahalaukun GIST-kasvaimen aiheuttamasta metastaattisesta keuhkopussin vauriosta. Immunohistokemialliset analyysit vahvistivat voimakkaan positiivisuuden c-KIT:lle (CD117) ja CD34:lle, kahdelle GIST:n tunnusmerkille, kun taas linja oli negatiivinen desmiinille, S-100:lle ja  $\alpha$ -sileälihasaktinille, mikä vahvisti sen ei-lihas- ja ei-hermoperäisen alkuperän. Sytogeneettiset tutkimukset paljastivat hypodiploidisen karyotyypin, jossa oli monimutkaisia kromosomipoikkeavuuksia, mukaan lukien rengaskromosomi ja useita epätasapainoisia translokaatioita. Vertaileva genomien hybridisaatio (CGH) ja FISH-analyysit osoittivat korkeatasoisia amplifikaatioita alueilla 3q26.1–27, 5p12–15.1 ja 7q21.3–36, jotka liittyvät usein onkogeneien amplifikaatioon GIST:ssä.

GIST-T1:ssä on kliinisesti merkityksellinen 57 nukleotidin in-frame-deleetio \*KIT\*-geenin eksonissa 11 (V570-Y578), joka on yksi yleisimmistä mutaatioista GIST-potilailla ja tyrosiinikinaasi-inhibiittorien, kuten imatinibin, kriittinen kohde. Tämä on tehnyt GIST-T1:stä olennaisen mallin KIT-välitteisen onkogeneesin ja terapeuttisen vasteen tutkimiseen. Pitkäaikaisessa viljelyssä GIST-T1-solut lisääntyvät vakaasti ja säilyttävät herkyytensä imatinibille, ellei niitä ole nimenomaisesti valittu resistenssin suhteen. GIST-T1:stä on tuotettu tutkimustarkoituksiin johdettuja resistenttejä alalinjoja, joissa esiintyy sekundaarisia KIT-mutaatioita (esim. D820V tai D820Y), mikä mahdollistaa resistenssimekanismien ja adaptiivisten transkriptiomuutosten tutkimisen. Näissä resistentissä malleissa esiintyy muutoksia detoksifikaatioon, solusyklin säätelyyn ja apoptoosin välttämiseen liittyvissä geneeissä.

GIST-T1 on myös edistänyt uusien onkogeneisten ajurien löytämistä GIST:ssä, mukaan lukien fuusiogeenit kuten EXOC2-AK7, jotka on tunnistettu imatinib-resistenteissä alalinjoissa. Toiminnalliset tutkimukset osoittivat, että nämä fuusiogeenit tehostavat GIST-solujen proliferaatio- ja migraatiokykyä ja herkistävät niitä imatinibille, mikä viittaa uusiin hoitovaihtoehtoihin. GIST-liittyvien supertehostajien ja transkriptiotekijäverkostojen (esim. HAND1 metastaattisessa etenemisessä) läsnäolo vahvistaa entisestään mallin hyödyllisyyttä GIST:n epigeneettisen ja transkriptioarkkitehtuurin selvittämisessä. Kaiken kaikkiaan GIST-T1 tarjoaa vankan, geneettisesti ja fenotyypisesti validoidun järjestelmän ruoansulatuskanavan stromasolujen kasvaimien biologian, lääkevasteen ja resistenssimekanismien tutkimiseen.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Metastaattinen

**Disease** Ruoansulatuskanavan stromasolukasvain

**Metastatic site** Pleuraeffuusio

**Synonyms** GIST-T-1, GISTT1, T1

## Ominaisuudet

**Age** 47 vuotta

**GIST-T1-solut | 305777****Gender** Nainen**Ethnicity** Japanilainen**Cell type** Cajal-solu**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** GIST-T1 (Cytion-tuotenumero 305777)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_4976**Biomolekyylitiedot****Mutational profile** Mutaatio: KIT, yksinkertainen, p.Val560\_Tyr578del (c.1679\_1735del), heterotsygootti**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 tuntia**Seeding density**  $1-4 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

## GIST-T1-solut | 305777

### Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300\text{ x g}$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**GIST-T1-solut | 305777**

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.