

GIST-T1 sejtek | 305777

Általános információk

Description

A GIST-T1 sejtvonal egy jól bevált humán gyomor-bélrendszeri stromális tumor (GIST) modell, amelyet egy felnőtt japán nőnél előforduló, primer gyomor-GIST-ből származó metasztatikus pleurális elváltozásból nyertek. Az immunhisztokémiai vizsgálatok erős pozitív eredményt mutattak a c-KIT (CD117) és a CD34 esetében, a GIST két jellegzetes markere esetében, míg a vonal desmin, S-100 és α -simaizom-aktin tekintetében negatív volt, megerősítve nem izom- és nem ideg eredetét. A citogenetikai vizsgálatok hipodiploid kariotípust mutattak komplex kromoszómális rendellenességekkel, beleértve egy gyűrűkromozómát és több kiegyensúlyozatlan transzlokációt. A komparatív genomikus hibridizációs (CGH) és FISH-elemzések magas szintű amplifikációkat mutattak a 3q26.1-27, 5p12-15.1 és 7q21.3-36 régiókban, amelyek gyakran társulnak onkogén amplifikációval a GIST-ben.

A GIST-T1 egy klinikailag releváns, 57 nukleotidból álló, in-frame deléciót hordoz a *KIT* gén 11. exonjában (V570-Y578), amely a GIST-betegeknél az egyik leggyakoribb mutáció, és az imatinibhez hasonló tirozin-kinázgátlók kritikus célpontja. Ez a GIST-T1-et a KIT-vezérelt onkogenezis és a terápiás válasz tanulmányozásának elengedhetetlen modelljévé tette. Hosszú távú tenyésztés során a GIST-T1 sejtek stabil proliferációt mutatnak, és megőrzik az imatinib iránti érzékenységüket, hacsak nem választják ki őket kifejezetten rezisztenciára. Kutatási célokra létrehoztak a GIST-T1-ből származó rezisztens alvonalakat, amelyek másodlagos KIT-mutációkat (pl. D820V vagy D820Y) mutatnak, lehetővé téve a rezisztenciamechanizmusok és az adaptív transzkripció változások tanulmányozását. Ezek a rezisztens modellek változásokat mutatnak a méregtelenítéssel, a sejtciklus szabályozásával és az apoptózis elkerülésével kapcsolatos génekben.

A GIST-T1 hozzájárult a GIST-ben előforduló új onkogén hajtóerők felfedezéséhez is, beleértve az imatinib-rezisztens alvonalakban azonosított EXOC2-AK7-hez hasonló fúziós géneket. Funkcionális vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a fúziós gének fokozzák a GIST-sejtek proliferációs és migrációs képességeit, és érzékenyebbé teszik őket az imatinibra, ami új terápiás lehetőségeket jelöl ki. A GIST-hez kapcsolódó szupererősítők és transzkripció faktor hálózatok (pl. a HAND1 a metasztatikus progresszióban) jelenléte tovább erősíti a modell hasznosságát a GIST epigenetikai és transzkripció felépítésének megértésében. Összességében a GIST-T1 egy robusztus, genetikailag és fenotípusilag validált rendszert biztosít a gyomor-bélrendszeri stromális tumorok biológiájának, gyógyszerre adott válaszában és rezisztenciamechanizmusainak tanulmányozásához.

Organism	Emberi
Tissue	Metasztatikus
Disease	Gyomor-bélrendszeri sztrómasejtes daganat
Metastatic site	Mellhártya folyadékgyülem
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Jellemzők

Age	47 év
------------	-------

GIST-T1 sejtek | 305777

Gender	Női
Ethnicity	Japán
Cell type	Cajal-intersticiális sejt
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	GIST-T1 (Cytion katalógusszám: 305777)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4976

Biomolekuláris adatok

Mutational profile	Mutáció: KIT, egyszerű, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozigóta
---------------------------	---

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 óra
Seeding density	$1-4 \times 10^4$ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

GIST-T1 sejtek | 305777

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

GIST-T1 sejtek | 305777

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.