

Cellule GIST-T1 | 305777

Informazioni generali

Description

La linea cellulare GIST-T1 è un modello consolidato di tumore stromale gastrointestinale (GIST) umano derivato da una lesione pleurica metastatica secondaria a un GIST gastrico primario in una donna giapponese adulta. Le analisi immunohistochimiche hanno confermato una forte positività per c-KIT (CD117) e CD34, due marcatori caratteristici del GIST, mentre la linea era negativa per desmina, S-100 e actina alfa della muscolatura liscia, confermando la sua origine non muscolare e non neurale. Gli studi citogenetici hanno rivelato un cariotipo ipodiploide con anomalie cromosomiche complesse, tra cui un cromosoma ad anello e diverse traslocazioni sbilanciate. L'ibridazione genomica comparativa (CGH) e le analisi FISH hanno mostrato amplificazioni di alto livello nelle regioni 3q26.1-27, 5p12-15.1 e 7q21.3-36, spesso associate all'amplificazione di oncogeni nel GIST.

Il GIST-T1 presenta una delezione in-frame di 57 nucleotidi clinicamente rilevante nell'esone 11 del gene *KIT* (V570-Y578), una delle mutazioni più comuni nei pazienti affetti da GIST e un bersaglio critico degli inibitori della tirosin-chinasi come l'imatinib. Ciò ha reso il GIST-T1 un modello essenziale per lo studio dell'oncogenesi guidata da KIT e della risposta terapeutica. In coltura a lungo termine, le cellule GIST-T1 mostrano una proliferazione stabile e mantengono la sensibilità all'imatinib a meno che non siano specificamente selezionate per la resistenza. A fini di ricerca sono state generate sottolinee resistenti derivate da GIST-T1 che presentano mutazioni secondarie del gene KIT (ad es. D820V o D820Y), consentendo lo studio dei meccanismi di resistenza e dei cambiamenti trascrizionali adattativi. Questi modelli resistenti mostrano alterazioni nei geni correlati alla detossificazione, alla regolazione del ciclo cellulare e all'evasione dell'apoptosi.

Il GIST-T1 ha inoltre contribuito alla scoperta di nuovi driver oncogenici nel GIST, inclusi geni di fusione come EXOC2-AK7, identificati in sottolinee resistenti all'imatinib. Studi funzionali hanno dimostrato che questi geni di fusione potenziano le capacità proliferative e migratorie delle cellule GIST e le sensibilizzano all'imatinib, indicando nuove vie terapeutiche. La presenza di super-potenziatori associati al GIST e di reti di fattori di trascrizione (ad esempio, HAND1 nella progressione metastatica) rafforza ulteriormente l'utilità del modello nel decifrare l'architettura epigenetica e trascrizionale del GIST. Nel complesso, GIST-T1 fornisce un sistema robusto, validato geneticamente e fenotipicamente, per lo studio della biologia, della risposta ai farmaci e dei meccanismi di resistenza dei tumori stromali gastrointestinali.

Organism Umano

Tissue Metastatico

Disease Tumore stromale gastrointestinale

Metastatic site Versamento pleurico

Synonyms GIST-T-1, GISTT1, T1

Caratteristiche

Age 47 anni

Gender Donna

Cellule GIST-T1 | 305777

Ethnicity Giappone

Cell type Cellula interstiziale di Cajal

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation GIST-T1 (codice Cytion 305777)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4976

Dati biomolecolari

Mutational profile Mutazione: KIT, semplice, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), eterozigote

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 ore

Seeding density da 1 a 4×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Cellule GIST-T1 | 305777

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule GIST-T1 | 305777

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.