

GIST-T1 ląstelės | 305777**Bendra informacija****Description**

GIST-T1 ląstelių linija yra gerai žinomas žmogaus virškinimo trakto stromos naviko (GIST) modelis, gautas iš metastazės pleuros pažeidimo, išsivysčiusio kaip antrinis navikas po pirminio skrandžio GIST suaugusiai japonų moteriai. Imunohistocheminiai tyrimai patvirtino stiprų c-KIT (CD117) ir CD34, dviejų pagrindinių GIST žymenų, teigiamumą, o linija buvo neigiama desminui, S-100 ir α -lygiųjų raumenų aktinui, patvirtindama jos ne raumeninę ir ne nervinę kilmę. Citogenetiniai tyrimai atskleidė hipodiploidinį kariotipą su sudėtingomis chromosomų anomalijomis, įskaitant žiedinę chromosomą ir keletą nesubalansuotų translokacijų. Lyginamoji genomine hibridizacija (CGH) ir FISH tyrimai parodė aukšto lygio amplifikacijas 3q26.1–27, 5p12–15.1 ir 7q21.3–36 regionuose, dažnai siejamose su onkogenų amplifikacija GIST.

GIST-T1 turi klinikinę reikšmę turinčią 57 nukleotidų in-frame deleciją *KIT* geno 11-ajame eksone (V570-Y578), kuri yra viena iš dažniausių mutacijų GIST pacientams ir kritinis tirozino kinazės inhibitorių, tokių kaip imatinibas, taikinyš. Dėl to GIST-T1 tapo esminiu modeliu KIT sukeltos onkogenozės ir terapinio atsako tyrimams. Ilgalaikėje kultūroje GIST-T1 ląstelės rodo stabilią proliferaciją ir išlaiko jautrumą imatinibui, nebent būtų specialiai atrinktos dėl atsparumo. Mokslinių tyrimų tikslais buvo sukurtos GIST-T1 atsparios atšakos, pasižyminčios antrinėmis KIT mutacijomis (pvz., D820V arba D820Y), leidžiančiomis tirti atsparumo mechanizmus ir adaptyvius transkripcijos pokyčius. Šie atsparūs modeliai rodo pokyčius genuose, susijusiuose su detoksikacija, ląstelių ciklo reguliavimu ir apoptozės išvengimu.

GIST-T1 taip pat prisidėjo prie naujų onkogeninių veiksnių atradimo GIST, įskaitant jungimo genus, pvz., EXOC2-AK7, identifiukuotus imatinibui atspariose sublinijose. Funkciniai tyrimai parodė, kad šie jungimo genai stiprina GIST ląstelių proliferacijos ir migracijos gebėjimus bei padidina jų jautrumą imatinibui, nurodydami naujas terapines galimybes. GIST susijusių super-stipriklių ir transkripcijos faktorių tinklų (pvz., HAND1 metastazės progresijoje) buvimas dar labiau sustiprina modelio naudingumą iššifruojant GIST epigenetinę ir transkripcinę struktūrą. Apibendrinant, GIST-T1 suteikia patikimą, genetiškai ir fenotipiškai patvirtintą sistemą virškinimo trakto stromos navikų biologijai, reakcijai į vaistus ir atsparumo mechanizmams tirti.

Organism Žmogus**Tissue** Metastazių**Disease** Virškinimo trakto stromos navikas**Metastatic site** Pleuros išskyros**Synonyms** GIST-T-1, GISTT1, T1**Charakteristikos****Age** 47 metai**Gender** Moteris

GIST-T1 ląstelės | 305777**Ethnicity** Japonų**Cell type** Kajalio tarpląstelinė ląstelė**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** GIST-T1 (Cytion katalogo numeris 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976**Biomolekuliniai duomenys****Mutational profile** Mutacija: KIT, paprasta, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozigotinė**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 valandos**Seeding density** $1-4 \times 10^4$ ląstelių/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

GIST-T1 ląstelės | 305777

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

GIST-T1 ląstelės | 305777

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.