

GIST-T1 šūnas | 305777

Vispārīga informācija

Description

GIST-T1 šūnu līnija ir labi izstrādāts cilvēka gastrointestinālā stromas audzēja (GIST) modelis, kas iegūts no metastātiska pleiras bojājuma, kas radies kā sekundārs primāram kuņģa GIST pieaugušai japāņu sievietei. Imunohistokīmiskās analīzes apstiprināja spēcīgu pozitīvu reakciju uz c-KIT (CD117) un CD34, diviem raksturīgiem GIST marķieriem, savukārt līnija bija negatīva attiecībā uz desmīnu, S-100 un α -gludās muskulatūras aktīnu, apstiprinot tās nemuskulāro un neiroloģisko izcelsmi. Citogenētiskie pētījumi atklāja hipodiploīdu kariotipu ar sarežģītām hromosomu anomālijām, tostarp gredzenveida hromosomu un vairākas nelīdzsvarotas translokācijas. Salīdzinošā genomiskā hibridizācija (CGH) un FISH analīzes parādīja augsta līmeņa amplifikācijas 3q26.1–27, 5p12–15.1 un 7q21.3–36 reģionos, kas bieži saistīti ar onkogēnu amplifikāciju GIST.

GIST-T1 satur klīniski nozīmīgu 57 nukleotīdu in-frame deleciju *KIT* gēna 11. eksonā (V570-Y578), kas ir viena no visbiežāk sastopamajām mutācijām GIST pacientiem un kritisks mērķis tirozīna kināzes inhibitoriem, piemēram, imatinibam. Tas ir padarījis GIST-T1 par būtisku modeli KIT vadītas onkogēzes un terapeitiskās atbildes pētīšanai. Ilgtermiņa kultūrā GIST-T1 šūnas parāda stabilu proliferāciju un saglabā jutību pret imatinibu, ja vien tās nav īpaši atlasītas rezistences dēļ. Pētniecības nolūkos ir izveidotas GIST-T1 rezistentās atvasinājumu sublīnijas, kurām ir sekundāras KIT mutācijas (piemēram, D820V vai D820Y), kas ļauj pētīt rezistences mehānismus un adaptīvās transkripcijas izmaiņas. Šie rezistentie modeļi parāda izmaiņas gēnos, kas saistīti ar detoksikāciju, šūnu cikla regulāciju un apoptozes izvairīšanos.

GIST-T1 ir arī veicinājis jaunu onkogēnu faktoru atklāšanu GIST, tostarp fūzijas gēnus, piemēram, EXOC2-AK7, kas identificēti imatinibam rezistentās sublīnijās. Funkcionālie pētījumi parādīja, ka šie fūzijas gēni pastiprina GIST šūnu proliferatīvās un migrācijas spējas un padara tās jutīgākas pret imatinibu, norādot uz jaunām terapeitiskām iespējām. GIST saistīto superpastiprinātāju un transkripcijas faktoru tīklu (piemēram, HAND1 metastāžu progresēšanā) klātbūtne vēl vairāk pastiprina modeļa lietderību GIST epigenētiskās un transkripcijas arhitektūras atšifrēšanā. Kopumā GIST-T1 nodrošina stabilu, ģenētiski un fenotipiski validētu sistēmu gastrointestinālo stromas audzēju bioloģijas, reakcijas uz zālēm un rezistences mehānismu izpēti.

Organism	Cilvēks
Tissue	Metastātisks
Disease	Gastrointestinālais stromas audzējs
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Raksturojums

Age	47 gadi
Gender	Sievietes

GIST-T1 šūnas | 305777

Ethnicity Japāņu**Cell type** Kahala starpšūnu**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** GIST-T1 (Cytion kataloga numurs 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976**Biomolekulārie dati****Mutational profile** Mutācija: KIT, vienkārša, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozigota**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 stundas**Seeding density** 1 līdz 4×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

GIST-T1 šūnas | 305777

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

GIST-T1 šūnas | 305777

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.