

GIST-T1-cellen | 305777

Algemene informatie

Description

De GIST-T1-celijn is een algemeen aanvaard model voor de menselijke gastro-intestinale stromale tumor (GIST), afkomstig van een uitgezaaide pleurale laesie die het gevolg was van een primaire GIST in de maag bij een volwassen Japanse vrouw. Immunohistochemische analyses bevestigden een sterke positiviteit voor c-KIT (CD117) en CD34, twee kenmerkende markers van GIST, terwijl de lijn negatief was voor desmine, S-100 en α -gladde spieractine, wat de niet-spier- en niet-neurale oorsprong ervan bevestigt. Cytogenetische studies brachten een hypodiploïd karyotype aan het licht met complexe chromosomale afwijkingen, waaronder een ringchromosoom en verschillende onevenwichtige translocaties. Vergelijkende genomische hybridisatie (CGH) en FISH-analyses toonden amplificaties op hoog niveau aan in de regio's 3q26.1-27, 5p12-15.1 en 7q21.3-36, die vaak geassocieerd worden met oncogeneamplificatie bij GIST.

GIST-T1 bevat een klinisch relevante in-frame deletie van 57 nucleotiden in exon 11 van het *KIT*-gen (V570-Y578), een van de meest voorkomende mutaties bij GIST-patiënten en een cruciaal doelwit van tyrosinekinaseremmers zoals imatinib. Dit heeft GIST-T1 tot een essentieel model gemaakt voor het bestuderen van KIT-gedreven oncogenese en therapeutische respons. In langdurige kweek vertonen GIST-T1-cellen stabiele proliferatie en behouden ze hun gevoeligheid voor imatinib, tenzij ze specifiek geselecteerd zijn op resistentie. Afgeleide resistente sublijnen van GIST-T1 zijn voor onderzoeksdoeleinden gegenereerd en vertonen secundaire KIT-mutaties (bijv. D820V of D820Y), waardoor het onderzoek naar resistentiemechanismen en adaptieve transcriptionele veranderingen mogelijk wordt. Deze resistente modellen vertonen veranderingen in genen die verband houden met ontgiftiging, regulering van de celcyclus en het omzeilen van apoptose.

GIST-T1 heeft ook bijgedragen aan de ontdekking van nieuwe oncogene drijfveren in GIST, waaronder fusiegenen zoals EXOC2-AK7, geïdentificeerd in imatinib-resistente sublijnen. Functionele studies hebben aangetoond dat deze fusiegenen de proliferatieve en migrerende capaciteiten van GIST-cellen versterken en ze gevoelig maken voor imatinib, wat wijst op nieuwe therapeutische mogelijkheden. De aanwezigheid van GIST-geassocieerde super-enhancers en transcriptiefactornetwerken (bijv. HAND1 bij metastatische progressie) versterkt het nut van het model voor het ontrafelen van de epigenetische en transcriptionele architectuur van GIST nog verder. Al met al biedt GIST-T1 een robuust, genetisch en fenotypisch gevalideerd systeem voor het bestuderen van de biologie, de respons op geneesmiddelen en de resistentiemechanismen van gastro-intestinale stromale tumoren.

Organism	Mens
Tissue	Uitgezaaid
Disease	Gastro-intestinale stromale tumor
Metastatic site	Pleurale effusie
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Kenmerken

Age	47 jaar
-----	---------

GIST-T1-cellen | 305777

Gender	Vrouw
Ethnicity	Japans
Cell type	Interstitiële cel van Cajal

Growth properties	Aanhangend
-------------------	------------

Regelgevende gegevens

Citation	GIST-T1 (Cytion-catalogusnummer 305777)
----------	---

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_4976
----------------------	-----------

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: KIT, eenvoudig, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozygoot
--------------------	--

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
----------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
-------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Doubling time	48 uur
---------------	--------

Seeding density	1 tot 4×10^4 c ^{ellen} /cm ²
-----------------	---

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
---------------	-----------------------

GIST-T1-cellen | 305777

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

GIST-T1-cellen | 305777

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.