

Komórki GIST-T1 | 305777**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa GIST-T1 stanowi uznany model ludzkiego guza stromalnego przewodu pokarmowego (GIST), wyhodowany z przerzutu do płucnej, będącego następstwem pierwotnego GIST żołądka u dorosłej Japonki. Analizy immunohistochemiczne potwierdziły silną pozytywność dla c-KIT (CD117) i CD34, dwóch charakterystycznych markerów GIST, podczas gdy linia wykazała wynik ujemny dla desminy, S-100 i α -aktyny mięśni gładkich, co potwierdza jej pochodzenie inne niż mięśniowe i nerwowe. Badania cytogenetyczne ujawniły kariotyp hipodiploidalny ze złożonymi nieprawidłowościami chromosomowymi, w tym chromosomem pierścieniowym i kilkoma niezrównoważonymi translokacjami. Analizy porównawczej hybrydyzacji genomowej (CGH) i FISH wykazały amplifikacje wysokiego poziomu w regionach 3q26.1-27, 5p12-15.1 oraz 7q21.3-36, często kojarzonych z amplifikacją onkogenów w GIST.

GIST-T1 zawiera klinicznie istotną 57-nukleotydową delecję w ramce odczytu w eksonie 11 genu *KIT* (V570-Y578), jedną z najczęstszych mutacji u pacjentów z GIST i kluczowy cel inhibitorów kinazy tyrozynowej, takich jak imatynib. To sprawiło, że GIST-T1 stał się niezbędnym modelem do badania onkogenezy wywołanej przez KIT i odpowiedzi na leczenie. W długotrwałej hodowli komórki GIST-T1 wykazują stabilną proliferację i zachowują wrażliwość na imatynib, chyba że zostaną specjalnie wyselekcjonowane pod kątem oporności. W celach badawczych wyhodowano pochodne, odporne podlinie GIST-T1, które wykazują wtórne mutacje KIT (np. D820V lub D820Y), umożliwiając badanie mechanizmów oporności i adaptacyjnych zmian transkrypcyjnych. Te odporne modele wykazują zmiany w genach związanych z detoksykacją, regulacją cyklu komórkowego i unikaniem apoptozy.

GIST-T1 przyczynił się również do odkrycia nowych czynników onkogennych w GIST, w tym genów fuzyjnych, takich jak EXOC2-AK7, zidentyfikowanych w podlinie odpornej na imatynib. Badania funkcjonalne wykazały, że te geny fuzyjne zwiększają zdolności proliferacyjne i migracyjne komórek GIST oraz uwrażliwiają je na imatynib, wskazując na nowe możliwości terapeutyczne. Obecność super-wzmacniaczy związanych z GIST i sieci czynników transkrypcyjnych (np. HAND1 w progresji przerzutowej) dodatkowo wzmacnia przydatność modelu w rozszyfrowywaniu architektury epigenetycznej i transkrypcyjnej GIST. Podsumowując, GIST-T1 zapewnia solidny, zweryfikowany genetycznie i fenotypowo system do badania biologii, odpowiedzi na leki i mechanizmów oporności guzów stromalnych przewodu pokarmowego.

Organism	Człowiek
Tissue	Przerzuty
Disease	Guz stromalny przewodu pokarmowego
Metastatic site	Wysięk płucnowy
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Charakterystyka

Age	47 lat
------------	--------

Komórki GIST-T1 | 305777**Gender** Kobieta**Ethnicity** Japoński**Cell type** Komórka śródmiąższowa Cajala**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** GIST-T1 (numer katalogowy Cytion 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976**Dane biomolekularne****Mutational profile** Mutacja: KIT, prosta, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozygotyczna**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 godzin**Seeding density** od 1 do 4×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki GIST-T1 | 305777

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki GIST-T1 | 305777

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.