

Células GIST-T1 | 305777

Informações gerais

Description

A linha celular GIST-T1 é um modelo bem estabelecido de tumor estromal gastrointestinal humano (GIST), derivado de uma lesão pleural metastática secundária a um GIST gástrico primário numa mulher japonesa adulta. Análises imuno-histoquímicas confirmaram forte positividade para c-KIT (CD117) e CD34, dois marcadores característicos do GIST, enquanto a linha apresentou resultados negativos para desmina, S-100 e actina alfa do músculo liso, confirmando a sua origem não muscular e não neural. Estudos citogenéticos revelaram um cariótipo hipodiploide com anomalias cromossômicas complexas, incluindo um cromossoma em anel e várias translocações desequilibradas. As análises de hibridização genómica comparativa (CGH) e FISH revelaram amplificações de alto nível nas regiões 3q26.1-27, 5p12-15.1 e 7q21.3-36, frequentemente associadas à amplificação de oncogenes no GIST.

O GIST-T1 apresenta uma deleção in-frame clinicamente relevante de 57 nucleótidos no exão 11 do gene *KIT* (V570-Y578), uma das mutações mais comuns em doentes com GIST e um alvo crítico de inibidores da tirosina quinase, como o imatinib. Isto tornou o GIST-T1 um modelo essencial para o estudo da oncogénese induzida pelo KIT e da resposta terapêutica. Em cultura a longo prazo, as células GIST-T1 apresentam proliferação estável e mantêm a sensibilidade ao imatinib, a menos que sejam especificamente selecionadas para resistência. Foram geradas sublinhagens resistentes derivadas do GIST-T1 para fins de investigação, que apresentam mutações secundárias no KIT (por exemplo, D820V ou D820Y), permitindo o estudo dos mecanismos de resistência e das alterações transcricionais adaptativas. Estes modelos resistentes apresentam alterações em genes relacionados com a desintoxicação, a regulação do ciclo celular e a evasão da apoptose.

O GIST-T1 também contribuiu para a descoberta de novos fatores oncogénicos no GIST, incluindo genes de fusão como o EXOC2-AK7, identificados em sublinhagens resistentes ao imatinib. Estudos funcionais demonstraram que estes genes de fusão aumentam as capacidades proliferativas e migratórias das células GIST e as sensibilizam ao imatinib, apontando para novas vias terapêuticas. A presença de super-potenciadores associados ao GIST e de redes de fatores de transcrição (por exemplo, HAND1 na progressão metastática) reforça ainda mais a utilidade do modelo na descifração da arquitetura epigenética e transcricional do GIST. Em conjunto, o GIST-T1 fornece um sistema robusto, validado genética e fenotipicamente, para o estudo da biologia, da resposta aos fármacos e dos mecanismos de resistência dos tumores estromais gastrointestinais.

Organism	Humano
Tissue	Metastático
Disease	Tumor estromal gastrointestinal
Metastatic site	Derrame pleural
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Caraterísticas

Age	47 anos
------------	---------

Células GIST-T1 | 305777**Gender** Feminino**Ethnicity** Japonês**Cell type** Célula intersticial de Cajal**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** GIST-T1 (número de catálogo Cytion 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutação: KIT, simples, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozigótica**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 horas**Seeding density** 1 a 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Células GIST-T1 | 305777

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células GIST-T1 | 305777

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.