

**Bunky GIST-T1 | 305777****Všeobecné informácie****Description**

Bunka GIST-T1 je osvedčený model ľudského gastrointestinálneho stromálneho nádoru (GIST), ktorý bol získaný z metastatického lézie pohrudnice, ktorá vznikla ako následok primárneho GIST žalúdka u dospelá japonskej ženy. Imunohistochemické analýzy potvrdili silnú pozitívitu na c-KIT (CD117) a CD34, dva charakteristické markery GIST, zatiaľ čo línia bola negatívna na desmín, S-100 a  $\alpha$ -aktín hladkého svalstva, čo potvrdilo jej nemuskulárny a ne-neurálny pôvod. Cytogenetické štúdie odhalili hypodiploidný karyotyp so zložitými chromozómovými abnormalitami, vrátane prstencového chromozómu a niekoľkých nevyvážených translokácií. Analýzy komparatívnej genómovej hybridizácie (CGH) a FISH ukázali amplifikácie na vysokej úrovni v oblastiach 3q26.1-27, 5p12-15.1 a 7q21.3-36, ktoré sú často spojené s amplifikáciou onkogénov v GIST.

GIST-T1 obsahuje klinicky relevantnú 57-nukleotidovú in-frame deléciu v exóne 11 génu \*KIT\* (V570-Y578), jednu z najčastejších mutácií u pacientov s GIST a kritický cieľ inhibítorov tyrozínkinázy, ako je imatinib. Vďaka tomu sa GIST-T1 stal základným modelom pre štúdium onkogenézy riadenej KIT a terapeutickú odpoveď. Pri dlhodobej kultivácii vykazujú bunky GIST-T1 stabilnú proliferáciu a zachovávajú citlivosť na imatinib, pokiaľ nie sú špecificky selektované na rezistenciu. Na výskumné účely boli vytvorené derivované rezistentné sublinie GIST-T1, ktoré vykazujú sekundárne mutácie KIT (napr. D820V alebo D820Y), čo umožňuje štúdium mechanizmov rezistencie a adaptívnych transkripčných zmien. Tieto rezistentné modely vykazujú zmeny v génoch súvisiacich s detoxikáciou, reguláciou bunkového cyklu a vyhýbaním sa apoptóze.

GIST-T1 tiež prispel k objaveniu nových onkogénnych faktorov v GIST, vrátane fúzných génov, ako je EXOC2-AK7, identifikovaných v subliniách rezistentných na imatinib. Funkčné štúdie preukázali, že tieto fúzne gény zvyšujú proliferáciu a migračné schopnosti buniek GIST a zvyšujú ich citlivosť na imatinib, čo poukazuje na nové terapeutické možnosti. Prítomnosť super-enhancerov asociovaných s GIST a sietí transkripčných faktorov (napr. HAND1 v metastatickom prograse) ďalej posilňuje užitočnosť modelu pri dešifrovaní epigenetickej a transkripčnej architektúry GIST. Celkovo GIST-T1 poskytuje robustný, geneticky a fenotypovo validovaný systém na štúdium biológie, reakcie na lieky a mechanizmov rezistencie gastrointestinálnych stromálnych nádorov.

<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Metastatické
<b>Disease</b>	Gastrointestinálny stromálny nádor
<b>Metastatic site</b>	Pleurálny výpotok
<b>Synonyms</b>	GIST-T-1, GISTT1, T1

**Charakteristika**

<b>Age</b>	47 rokov
<b>Gender</b>	Ženy

**Bunky GIST-T1 | 305777****Ethnicity** Japonský**Cell type** Cajalova intersticiálna bunka**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** GIST-T1 (katalógové číslo Cytion 305777)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_4976**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: KIT, jednoduchá, p.Val560\_Tyr578del (c.1679\_1735del), heterozygotná**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 hodín**Seeding density** 1 až  $4 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

## Bunky GIST-T1 | 305777

### Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky GIST-T1 | 305777

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.